

Institut für Molekulare Mechanismen bei Krankheiten
der Vetsuisse-Fakultät Universität Zürich

Direktor: Prof. Dr. med. vet. et phil. II Michael Hottiger
Musculoskeletal Research Unit (MSRU)
Leiterin: Prof. Dr. med. vet. Brigitte von Rechenberg, Dipl. ECVS

Arbeit unter wissenschaftlicher Betreuung von
Dr. med. vet. Katja Nuss

**Evaluation eines neuen Biomaterials aus Carboxymethylcellulose zur
Augmentation von Weichteilgewebe – eine Pilotstudie in Minipigs**

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde der
Vetsuisse-Fakultät Universität Zürich

vorgelegt von

Christina Wiezorek

Tierärztin
aus Stolberg, Deutschland

genehmigt auf Antrag von

Prof. Dr. med. vet. Brigitte von Rechenberg, Referentin

Prof. Dr. med. vet. Hans Geyer, Korreferent

2020

Für die drei Schweine

Zusammenfassung	9
Summary	10
1 Einleitung	11
1.1 Problemstellung	11
1.2 Zielsetzung der Arbeit.....	12
1.3 Versuchsanordnung	13
2 Literaturübersicht	14
2.1 Klinische Problemstellung	14
2.2 Soft tissue filler (injizierbar)	18
2.2.1 Autologes Fettgewebe	19
2.2.2 Kollagen	21
2.2.3 Hyaluronsäurederivate (HA)	22
2.2.4 Calcium Hydroxylapatit (CaHA)	23
2.2.5 Polymethylmethacrylat (PMMA).....	25
2.2.6 Poly-L-lactic acid (PLLA).....	27
2.2.7 Zusammenfassung	28
2.3 Tiermodell	28
2.4 Biokompatibilität	31
2.5 In vivo Untersuchung der Biokompatibilität	33
2.6 Bildgebende Verfahren zur Darstellung injizierter Materialien	34
3 Material und Methoden	36
3.1 Aufbau der Studie	36
3.2 Vorbereitung	38
3.3 Operation	39
3.3.1 Operationsvorbereitung	39
3.3.2 Anästhesie	39
3.3.3 Perioperative Medikation	40
3.3.4 Spezifikation Test-Item und Referenz-Item	40
3.3.5 Chirurgischer Eingriff	41

3.3.6	Postoperative Bildgebung	42
3.3.7	Postoperatives Management	42
3.4	In-Life Phase.....	42
3.4.1	Tägliche Überwachung der Tiere.....	42
3.4.2	Tägliche Beurteilung der Injektionsstellen	42
3.4.3	Monatliche makroskopische Beurteilung und Dokumentation.....	43
3.4.4	Monatliche Ultraschalluntersuchung	43
3.4.5	MRT und Biopsie (mit Sonografie)	44
3.5	Bildgebung	46
3.5.1	Ultraschall	46
3.5.2	MRT	46
3.6	Euthanasie und postmortale Untersuchungen	47
3.6.1	Euthanasie	47
3.6.2	Postmortale Untersuchungen	47
3.6.3	Gewebeentnahme und histologische Probenaufbereitung	47
3.7	Auswertung.....	47
3.7.1	Tägliche Beurteilung der Injektionsstellen	47
3.7.2	Monatliche makroskopische Beurteilung und Dokumentation.....	48
3.7.3	Monatliche Ultraschalluntersuchung	48
3.7.4	MRT	49
3.7.5	Histologie	49
3.8	Zusammenfassung der Komplikationen	50
3.9	Statistische Analyse.....	50
4	Resultate.....	51
4.1	Vorbereitung	51
4.2	Operation	51
4.2.1	Operationsvorbereitung.....	51
4.2.2	Anästhesie	51
4.2.3	Perioperative Medikation	51
4.2.4	Chirurgischer Eingriff	51
4.2.5	Postoperative Bildgebung	52
4.2.6	Postoperatives Management	52

4.3	In-Life Phase	52
4.3.1	Tägliche Überwachung der Tiere	54
4.3.2	Tägliche Beurteilung der Injektionsstellen.....	55
4.3.3	Monatliche makroskopische Beurteilung und Dokumentation	55
4.3.4	Monatliche Ultraschalluntersuchung.....	57
4.3.5	MRT und Biopsie (mit Sonografie).....	58
4.4	Bildgebung	58
4.4.1	Ultraschall	58
4.4.2	MRT	60
4.5	Postmortale Untersuchungen	61
4.6	Auswertung	61
4.6.1	Tägliche Beurteilung der Injektionsstellen.....	61
4.6.2	Monatliche makroskopische Beurteilung und Dokumentation	66
4.6.3	Monatliche Ultraschalluntersuchung.....	68
4.6.4	MRT	71
4.6.5	Histologie	74
4.6.6	Zusammenfassung der Komplikationen	78
5	Diskussion.....	80
5.1	Tiermodell	80
5.2	Operation	82
5.3	In-Life Phase	83
5.3.1	Tägliche Überwachung der Tiere	83
5.3.2	Tägliche Beurteilung der Injektionsstellen.....	83
5.3.3	Monatliche makroskopische Beurteilung und Dokumentation	83
5.3.4	Biopsie	85
5.4	Bildgebung	85
5.4.1	Ultraschall	85
5.4.2	MRT	86
5.5	Postmortale Untersuchungen	87
5.6	Auswertung	88
5.6.1	Tägliche Beurteilung der Injektionsstellen.....	88

5.6.2	Monatliche makroskopische Beurteilung und Dokumentation.....	88
5.6.3	Monatliche Ultraschalluntersuchung	88
5.6.4	MRT	89
5.6.5	Histologie	91
5.6.6	Zusammenfassung der Komplikationen	95
5.7	Statistische Analyse.....	97
5.8	Schlussfolgerung und Perspektiven.....	97
6	Literaturverzeichnis	100
7	Abkürzungsverzeichnis	108
8	Anhang	110
8.1	Tabellen.....	110
8.2	Abbildungen	144
	Danksagung	
	Curriculum Vitae	

Zusammenfassung

In der vorliegenden Studie wurde ein neu entwickelter injizierbarer Soft tissue filler zur Rekonstruktion von Brustgewebe am Tiermodell Schwein untersucht. Das Material sollte mit einer minimalinvasiven Methode injiziert werden und zu einer langanhaltenden Volumenzunahme führen. Das Test-Item (TI) wurde bei 3 Schweinen in 6 Mammarkomplexe einer Milchleiste injiziert, in die andere wurde Radiesse® als Referenz-Item eingebracht. Zur Beurteilung der Biokompatibilität und des Volumenerhalts erfolgten monatlich Ultraschalluntersuchungen und alle 2 Monate eine makroskopische Beurteilung, MRT-Untersuchungen sowie Biopsieentnahmen. 6 Monate nach der Injektion wurden die Tiere euthanasiert und die gesamten Injektionsbereiche für die histologische Untersuchung entnommen.

Komplikationen wie Rötungen und Schwellungen traten häufiger beim TI auf, Abszesse oder Granulome ausschliesslich beim TI. Das TI schien eine unerwünschte Reaktion des Körpers ausgelöst zu haben. Die Volumenbestimmung liess zudem keinen klaren Verlauf erkennen. Eine Kombination verschiedener bildgebender Methoden erscheint hierbei sinnvoll, da alle individuelle Einschränkungen und Nachteile haben. Gleiches gilt auch für die Beurteilung der Biokompatibilität mittels bildgebender Verfahren als Ergänzung zur Histologie.

Vor einer klinischen Prüfung des TIs wären weitere Untersuchungen zu der Frage nötig, ob die Biokompatibilität durch die Applikation kleinerer Volumina oder die Zugabe von Adipozyten verbessert werden kann.

Stichworte: Injizierbare Soft tissue filler, Minipigs, Biokompatibilität, Volumenerhalt

Summary

In this study, a novel injectable soft tissue filler was investigated for the reconstruction of breast tissue using pigs as animal models. The material should be injected by minimal invasive method for a long-term increase of the tissue volume. The test item (TI) was injected in 6 mammary complexes of a milk fillet of 3 different pigs while the reference item Radiesse® was injected in the other fillet. To assess the biocompatibility and the maintenance of the volume, monitoring by monthly ultrasound examination as well as macroscopic assessment, MRT examination and biopsy every 2 month were conducted. 6 months after injection of the items, the animals were euthanized and the entire injection area was removed for histological examination.

Complications such as reddening and swelling of the affected areas were observed more often in TI while abscesses and granulomas were exclusively seen in the TI. The TI probably triggered undesirable reactions in the animal bodies. Monitoring of the tissue volume did not reveal a clear development after the injections. A combination of various imaging methods appears reasonable since every method has its individual limitations and disadvantages. That is also the case for the assessment of the biocompatibility by imaging methods as an addition to histology.

Further investigations concerning a possible enhancement of biocompatibility when using smaller volumes or adding adipocytes need to be addressed before applying the TI in clinical studies.

Keywords: Injectable soft tissue filler, minipigs, biocompatibility, volume preservation

1 Einleitung

1.1 Problemstellung

Die Thematik der Brustrekonstruktion nach einer Mastektomie oder Teilresektion in Folge einer Brustkrebserkrankung stellt noch immer eine Herausforderung dar. Die Auswahl der Implantate (fest oder injizierbar) muss adäquat und individuell auf die Patientinnen abgestimmt werden. Die verwendeten Materialien müssen eine sehr gute Biokompatibilität aufweisen, längerfristig halten und dürfen die Erkennung von Tumorrezidiven nicht verhindern.

Für die Rekonstruktion gibt es zurzeit verschiedene Möglichkeiten. Eine Methode ist die technisch relativ einfache Verwendung von klassischen Implantaten^{1,2}. Diese Methode kann jedoch mit Komplikationen wie Kapselkontrakturen, Rupturen und Infektionen verbunden sein³, und die Implantate müssen in der Regel alle 10-15 Jahre ersetzt werden⁴. Des Weiteren können autologe Muskelflaps für die Rekonstruktion genutzt werden. Diese erzeugen ein natürliches Aussehen⁵ und eine gute Langzeit-Zufriedenheit⁶. Allerdings kann es dabei zu Einschränkungen der Funktion an der Entnahmestelle kommen⁶, die Operations- und Rekonvaleszenzzeiten sind länger² und es besteht das Risiko eines Verlustes des Flaps⁷. Eine weitere Methode zur Augmentation von Weichteilgewebe stellen die injizierbaren Soft tissue filler dar. Diese Materialien können mittels Injektion einfach und ambulant appliziert werden⁸. In dieser Gruppe stehen verschiedene Materialien zur Verfügung⁹, von denen in der Literatur lediglich autologes Fettgewebe für die Anwendung im Bereich der Brust¹⁰ genannt wird. Die anderen Produkte werden überwiegend zur kosmetischen Volumenauffüllung im Bereich des Gesichtes injiziert^{8,9}. Autologes Fettgewebe ist in Verbindung mit der Brustrekonstruktion, verglichen mit den anderen chirurgischen Möglichkeiten, eine sichere und weniger invasive Methode¹¹. Ein Nachteil ist allerdings, dass ein unvorhersehbarer Teil des Fettes resorbiert wird⁸. Zudem kann das Risiko einer neu auftretenden Neoplasie oder eines Rezidivs durch die Injektion von Fettgewebe nicht mit Sicherheit ausgeschlossen werden¹².

Im Moment steht kein injizierbares Material zur Verfügung, das alle oben genannten Kriterien erfüllt. Daher wurde das zu testende Material (Test-Item) entwickelt, um eine optimale Methode der Volumenauffüllung zu ermöglichen.

1.2 Zielsetzung der Arbeit

Das Ziel dieser Arbeit war die Durchführung und Evaluation einer Studie zur Biokompatibilität und Volumenentwicklung eines neu entwickelten injizierbaren Soft tissue fillers (natürliches Polysaccharid Carboxymethylcellulose). Die Studie sollte am Tiermodell Schwein durchgeführt werden und das Material mit einem bereits von der FDA, unter anderem für die ästhetische Volumenauffüllung im Gesicht (wie z.B. die Behandlung von moderaten bis schweren Falten und der mit HIV assoziierten Lipoatrophie des Gesichts), zugelassenen⁹ Referenz-Item verglichen werden. Das Test-Item soll klinisch für die Brustrekonstruktion im Anschluss an eine Mastektomie oder zur Auffüllung kleiner Defekte nach einer Teilamputation verwendet werden. Eine möglichst langanhaltende Volumenzunahme soll durch die langsame Resorption und das Einwachsen von Bindegewebe erreicht werden. Zudem sind eine gute Biokompatibilität und ein zufriedenstellendes kosmetisches Ergebnis erwünscht.

Die Biokompatibilität des Test-Items wurde bereits in einem Nagermodell getestet, allerdings können bei Mäusen nur kleine Mengen appliziert werden. Grössere Volumina könnten möglicherweise zu einer Veränderung der Biokompatibilität, des Volumenerhalts und der Degradierung des Materials führen. Schweinen können grössere Volumina appliziert und somit die Auswirkungen auf diese Parameter überprüft werden. Zudem haben Schweine eine relativ gespannte und feste Haut, die der des Menschen nahekommt. Somit kann die mechanische Stabilität des Materials unter Bedingungen getestet werden, die der klinischen Nutzung im Menschen eher entsprechen, insbesondere, wenn die Injektionen im Bereich der Milchleiste erfolgen.

Ein weiterer Punkt, der in dieser Studie untersucht werden sollte, ist die optimale Form der Applikation, da diese möglicherweise die Integration und Degradierung beeinflussen kann. Dafür wurden 2 verschiedene Injektionsformen («Bolus» und «Stern») verwendet. Zudem sollten die verschiedenen Methoden zur Beurteilung des Volumenerhalts und der Biokompatibilität miteinander verglichen werden.

1.3 Versuchsanordnung

Die Versuchsgruppe bestand aus 3 Schweinen der Rasse Göttinger Minipig. Das Test-Item bestand aus dem natürlichen Polysaccharid Carboxymethylcellulose und das Referenz-Item war Radiesse®, das als injizierbares Gel für das Auffüllen kleinerer Volumina im Bereich des Gesichtes verwendet wird. Jedes Schwein erhielt 12 Injektionen im Bereich der Mammaleisten, wobei jeweils 6 Injektionen pro Seite vorgenommen wurden. Auf einer Seite wurde das Test-Item und auf der anderen das Referenz-Item injiziert. Die erste Injektion war jeweils eine Bolus-Injektion mit 5 ml Material und die zweite eine sternförmige Injektion mit 5 Linien aus je 1 ml (Abb. 3.1.3). Die weiteren Injektionen wurden abwechselnd durchgeführt (Abb. 3.1.2). Ultraschalluntersuchungen und Fotos der Injektionen wurden monatlich gemacht. MRT-Untersuchungen wurden direkt nach der Injektion und nach 2, 4 und 6 Monaten durchgeführt. Die Ultraschall- und MRT-Untersuchungen wurden zur Volumenbestimmung und Beurteilung der lokalen Reaktion verwendet. Die Genauigkeit dieser beiden Methoden soll am Ende der Studie verglichen werden. Nach 2 und 4 Monaten wurden jeweils 4 Biopsien pro Tier und bei der Euthanasie 6 Monate nach der Injektion sämtliche Injektionsbereiche für die histologische Untersuchung entnommen. Die histologische Untersuchung diente der Beurteilung der Biokompatibilität.

2 Literaturübersicht

2.1 Klinische Problemstellung

Das (Wieder-)Aufbauen von Weichteilgewebe wird aus verschiedenen Gründen durchgeführt. Dazu gehört zum einen die rein ästhetische Anwendung z.B. zur Veränderung der Gesichtskonturen¹³ bei ansonsten gesunden Patienten¹⁴. Des Weiteren werden im Rahmen rekonstruktiver Eingriffe Weichteildefekte aufgefüllt¹⁴. Mögliche Ursachen für Weichteildefekte sind zum Beispiel Traumata^{15,16}, Krankheiten (z.B. die Lipodystrophie bei Menschen mit HIV-¹⁷ oder anderen Infektionen¹⁶), Tumorsektionen^{6,16,18-20} oder angeborene Defekte (z.B. Poland Syndrom)¹⁰. Auch während des natürlichen Alterungsprozesses kann es zu einem Verlust von Weichteilgewebe unter anderem in Form von Falten kommen⁹.

Ein weiterer wichtiger Bereich ist die Rekonstruktion der weiblichen Brust. Der Verlust der Brust kann zu einer hohen psychischen Belastung führen²¹, die Rekonstruktion der Brust kann dazu beitragen die Lebensqualität der Betroffenen zu verbessern²¹ und psychisches Leiden vermindern²².

Eine Vergrößerung der Brust kann neben der rein kosmetischen Anwendung unter anderem auch bei angeborenen Mikromastien, schweren Asymmetrien²³ und Fehlbildungen wie dem Poland-Syndrom oder der tubulären Brust durchgeführt werden²⁴. Eine weitere Indikation ist die Rekonstruktion der Brust zur Wiederherstellung der Symmetrie nach der chirurgischen Behandlung von Brustkrebs¹. Dadurch sollte eine natürliche und symmetrische Brust aufgebaut werden, die sensibel und weich ist⁵. Die dafür verwendete Methode hängt von der gewählten Resektionsmethode, der Notwendigkeit einer Bestrahlung und von den Erwartungen sowie Einschränkungen der Patientin ab²⁵.

Bei der Brustrekonstruktion wird grundsätzlich zwischen nicht-autologen und autologen Methoden unterschieden, auch eine Kombination beider Techniken ist möglich¹.

Zur Gruppe der nicht-autologen Verfahren gehören Brustimplantate¹. Die aktuell verfügbaren Implantate lassen sich nach ihrer Füllung (Silikon bzw. Kochsalz), Oberflächenstruktur (glatt bzw. rau) und Form (rund bzw. anatomisch geformt) einteilen²⁶. Die Rekonstruktion mit Implantaten kann in einem oder zwei Schritten durchgeführt werden. Bei der einschrittigen Methode wird direkt ein permanentes Implantat eingesetzt. Die zweistufige Technik erfordert hingegen zunächst die

Implantation eines Tissue expanders. Dieser wird mit der Zeit aufgefüllt und später durch ein dauerhaftes Implantat ersetzt⁴.

Bei Brustrekonstruktion mit Implantaten können verschiedene Komplikationen auftreten. Dabei kann zwischen generellen operationsbedingten und spezifischen implantatbedingten Komplikationen unterschieden werden²⁷. Zu den spezifischen Folgen gehören z.B. Kapselkontrakturen. Nach der Implantation kommt es meist zur Bildung einer weichen und dünnen Kapsel aus Kollagenfasern um das Implantat. Diese führt in der Regel nicht zu einer Beeinträchtigung von Aussehen oder Gefühl der Brust²⁷. Bei manchen Patientinnen kann es zu einer Kapselkontraktur durch eine Kontraktion und Verdickung der Kapsel kommen. Dadurch können sichtbare Deformationen und Schmerzen entstehen²⁷. Die Ursache hierfür ist nicht bekannt, es wird aber ein Zusammenhang mit Hämatomen, Seromen und Infektionen vermutet³. Zudem gibt es Hinweise dafür, dass Mikrobewegungen an der Fläche zwischen Implantat und Gewebe durch Stimulation der Zellen und mechanische Reizung zur Fibrose führen²⁸. Eine erneute Operation mit der Entfernung des Implantates kann in Folge dessen erforderlich sein³. Auch bei Patientinnen, die eine Bestrahlung benötigen, kann es zu Kapselkontrakturen kommen²⁹. Die Häufigkeit der Entwicklung einer Kapselkontraktion variiert in der Literatur. Beispielsweise geben Cordeiro & McCarthy³⁰ eine Rate von 10.4% und Holmes³¹ eine von 29% für Kapselkontrakturen Grad III/IV an. Andere mögliche Komplikationen sind unter anderem Rupturen, Schmerzen, Asymmetrien, Infektionen, fehlerhafte Positionen, Nekrosen und eine Faltenbildung des Implantates³. Bei einer Ruptur des Implantates kommt es zu einem Loch oder Riss in der Hülle. Ursachen dafür sind beispielsweise eine Beschädigung des Implantates bei der Operation oder bei Biopsien, Kapselkontrakturen, der normale Alterungsprozess des Implantates, Traumata oder andere Formen von starkem Druck auf das Implantat³. Die Wahrscheinlichkeit der Ruptur bei Silikonimplantaten steigt mit der Zeit an, sie ist grundsätzlich aber jederzeit möglich³. Viele Rupturen sind klinisch nicht auffällig, in manchen Fällen kann es allerdings z.B. zu Schmerzen, Schwellungen, Verhärtungen oder Taubheit kommen. In der Regel wird das defekte Implantat chirurgisch ersetzt²⁷.

Im Gegensatz zur Rekonstruktion mit autologem Gewebe ist bei Implantaten die Operationszeit kürzer, es wird keine Entnahmestelle für Gewebe benötigt und die Rekonvaleszenzzeit ist kürzer². Zudem handelt es sich um eine relativ einfache² und im Vergleich zur autologen Rekonstruktion weniger invasive³² Technik. Nachteile der Verwendung von Implantaten sind, dass langfristig oft Berichtigungen notwendig sind,

es bei Bestrahlung in 40-50% zu Kapselkontrakturen kommt und weitere Komplikationen, wie z.B. Rupturen und Kontrakturen, auftreten können⁵. Brustimplantate bestehen aus einem für den Körper fremden Material²⁴, die Implantate haben in der Regel eine Haltbarkeit von 10 bis 15 Jahren³³. Nach dieser Zeit müssen sie aufgrund des Risikos einer Ruptur, einer unerwünschten Rotation oder einer Undichtigkeit ersetzt werden. Die damit verbundenen chirurgischen Eingriffe führen zu einer zusätzlichen Beeinträchtigung der Patientin⁴. Eine regelmässige Überwachung ist nötig, um mögliche Tumorrezidive oder Implantatrupturen zu erkennen³³. Zudem gibt es Berichte über anaplastisch-grosszellige Lymphome (ALCL) im Zusammenhang mit Brustimplantaten, deren Häufigkeit scheinbar zunimmt. Die Ursache für die Entstehung ist grösstenteils noch unbekannt³⁴. Die FDA ist 2011 zu dem Schluss gekommen, dass ein Zusammenhang zwischen ALCL und Brustimplantaten möglich ist²⁶.

Bei den autologen Transplantaten werden gestielte und freie Flaps unterschieden¹. Gestielte Flaps bleiben weiterhin mit der ursprünglichen Blutversorgung verbunden¹. Freie Flaps hingegen sind isoliert und werden mit Hilfe mikrochirurgischer Methoden über Anastomosen mit Blutgefässen der Empfängerstelle verbunden¹. Es gibt, je nach Herkunft, unterschiedliche Arten von Flaps¹. Am häufigsten wird abdominales Gewebe verwendet, da es zu einem natürlichen Ergebnis führen kann, einfach zu entnehmen ist und zusätzlich zu einer Verbesserung der Kontur des Abdomens führt. Das Gesäss, die Hüfte und die Oberschenkel werden seltener als Entnahmestellen genutzt².

Der Transverse Rectus Abdominis Musculocutaneus (TRAM)-Flap wird aus dem unteren Abdomen entnommen und besteht aus einem Teil des M. rectus abdominis, Haut und Fettgewebe, der muskuläre Anteil dient als Träger für Blutgefässe¹. Bei dieser Art von Flap besteht ein relativ grosses Risiko für Hernien². Eine Verbesserung des TRAM-Flaps stellt der tiefe inferiore epigastrische Perforator (DIEP)-Flap dar, der lediglich aus Haut und Fettgewebe vom unteren Abdomen besteht. Es ist keine Entnahme von Muskulatur nötig, da freie Blutgefässe präpariert werden, die den M. rectus abdominis überqueren. Die Beeinträchtigung der Entnahmestelle wird damit gemindert¹. Der myokutane Latissimus dorsi Flap ist ein robuster gestielter Flap. Er besteht aus einem Teil des M. latissimus dorsi, einem Hautanteil und Fettgewebe, der an die vordere Brustwand verschoben wird. Mit dieser Methode können Haut und Volumen wiederaufgebaut werden. Für ein adäquates Volumen ist allerdings ein zusätzliches Brustimplantat oder die Verwendung des gesamten Muskels notwendig¹.

Vorteile der myokutanen Flaps sind unter anderem das natürliche Aussehen und der natürliche Alterungsprozess sowie die Tatsache, dass es sich um körpereigenes Gewebe handelt⁵. Die Nachteile sind von der Art des Flaps abhängig. Dabei kann es sich beispielsweise um die komplexe mikrochirurgische Technik von freien Flaps oder mögliche Komplikationen, wie Hernien oder Nekrosen des Fettgewebes handeln⁵. Mögliche Beeinträchtigung der Entnahmestelle sind zudem Serome³⁵ und der Verlust der Funktion durch die Entnahme von Muskulatur³⁶. Ferner ist die Abschätzung des Brustvolumens nach der Rekonstruktion mit myokutanen Flaps durch die spätere Abnahme des Volumens schwierig. Diese Tatsache ist ein weitverbreitetes Argument gegen diese Form der Rekonstruktion³⁷.

Perforator-Flaps verschonen die Muskulatur und bestehen nur aus Haut und subkutanem Fett. Eine geringere Beeinträchtigung der Entnahmestelle und verbesserte Erholung nach der Operation sind daher Vorteile dieser Flaps. Nachteile dieser Methode sind der höhere technische Aufwand zur Präparation der kleinen Gefäße und die verlängerte Operationszeit³⁶. Eine weitere Schwierigkeit ist, dass die Gefässanatomie nicht einheitlich ist. Dadurch können das Risiko für Fettnekrosen und die Operationsdauer beeinflusst werden³⁸.

Die Rekonstruktion mit Implantaten ist im Gegensatz zu autologen Methoden technisch leichter durchzuführen, Komplikationen an einer Entnahmestelle treten nicht auf⁷. Die Implantate müssen allerdings etwa alle 10-15 Jahre durch weitere operative Eingriffe ersetzt werden⁴. Zudem gibt es zur Zeit noch kein perfektes Implantat für die Brustrekonstruktion²⁶.

Die autologe Rekonstruktion führt im Vergleich zu Implantaten zu länger andauernden Ergebnissen³⁹, einer guten Langzeit-Zufriedenheit⁶ und erneute Operationen sind seltener notwendig⁷. Es kommt allerdings zu einer bedeutenden Beeinträchtigung der Entnahmestelle⁷, z.B. in Form von Narben, Einschränkungen der Funktion und Deformationen der Kontur⁶. Im Übrigen kann es zu einem Verlust des Flaps kommen, was zwar selten auftritt, aber schwerwiegende Folgen hat⁷. Ausserdem sind die Operations- und Rekonvaleszenzzeit der autologen Rekonstruktion erheblich länger als bei Implantaten² und die mikrovaskuläre Übertragung des Gewebes ist aufwendig und kompliziert⁴⁰.

Eine weitere Methode zur Brustvergrößerung ist autologes Fettgewebe²⁴. Diese wird unter Punkt 2.2.1 genauer beschrieben.

Neben den genannten Methoden gibt es noch die Gruppe der injizierbaren Soft tissue filler zur Auffüllung von Defekten des Weichteilgewebes⁹.

2.2 Soft tissue filler (injizierbar)

Die Anzahl der verfügbaren injizierbaren Materialien zur Auffüllung von Weichteilgewebe hat in den letzten Jahren zugenommen⁹. Von der FDA sind zurzeit Produkte mit Kollagen, Hyaluronsäure (HA), Calcium Hydroxylapatit (CaHA), Poly-L-lactic acid (PLLA) und Polymethylmethacrylat (PMMA) zugelassen⁴¹. Auch autologes Fettgewebe kann zum Auffüllen von Gewebe injiziert werden⁹. Jedes Material hat spezifische und charakteristische Eigenschaften, die sie für verschiedene Anwendungsgebiete geeignet machen⁹. Diese Stoffe lassen sich nach ihrer Herkunft in vier verschiedene Kategorien einteilen. Es gibt Xenotransplantate von einer anderen Spezies als der Empfängerspezies (bovines Kollagen), Homotransplantate von der gleichen Spezies (humanes Kollagen), Autotransplantate von dem gleichen Individuum (autologes Fettgewebe) und synthetische Materialien (z.B. flüssige Silikone)⁸. Eine weitere Möglichkeit, die verwendeten Produkte einzuteilen, bietet die Dauer des Effektes. Demnach gibt es kurz anhaltende (bis 6 Monate), lang anhaltende bzw. semipermanente (bis 3 Jahre) und permanente (über 3 Jahre) Präparate⁴².

Zur Herstellung injizierbarer Füllstoffe für die Haut wurden natürliche Bestandteile der Haut in verschiedenen Formen verwendet⁸. Fettgewebe wurde bereits Anfang des 20. Jahrhunderts für die Behandlung bei Verlust von Volumen infolge von Traumata gebraucht. Auch wenn der Effekt häufig nicht langfristig ist, wird diese Methode heute noch angewendet⁹. Anschliessend wurde bovines Kollagen zur Injektion entwickelt, bei dem aufgrund der potenziellen allergischen Reaktion zuvor mittels Hauttests die Verträglichkeit überprüft werden muss⁹. Inzwischen stehen weitere Materialien mit unterschiedlichen Vor- und Nachteilen zur Verfügung⁹.

Heutzutage spielen injizierbare Füllmaterialien eine grosse Rolle im Bereich der kosmetischen Chirurgie⁹ und besonders bei der Korrektur einer Vielzahl von Defekten des Weichteilgewebes im Gesicht⁸. Dabei werden sie vor allem für das Auffüllen kleinerer Defekte wie Falten und Narben verwendet⁹. Das ideale Material sollte sicher, effizient und praktikabel sein⁴³.

Häufige unerwünschte Effekte sind beispielsweise Blutergüsse, Schwellungen und Rötungen. Zudem können Schmerzen im Injektionsbereich und Blutungen auftreten. Bei einer zu oberflächlichen Applikation kann es zu sichtbaren Knötchen kommen, die sich

aber mittels Massage oder ohne weitere Behandlung auflösen können. Des Weiteren können selten Nebenwirkungen wie allergische Reaktionen, Infektionen, Granulome oder Migration des Materials beobachtet werden⁹. Eine normale Fremdkörperreaktion findet bei allen injizierbaren Materialien zur Volumenauffüllung statt. Bei manchen Patienten kann sich daraus ein Fremdkörpergranulom entwickeln. Die Ursachen für die Entstehung sind noch unbekannt, wodurch es schwer ist, eine Vorhersage zu treffen⁴⁴. Jedoch führen Mikrosphären mit einer glatten Oberfläche signifikant seltener zu einer Granulombildung als Partikel mit kantiger oder unregelmässiger Oberfläche⁴⁵. Echte Granulome sind generell selten und können häufig mit intraläsionalen Steroidinjektionen behandelt oder, falls nötig, chirurgisch entfernt werden. Die meisten Knoten entstehen durch verklumptes Material⁹.

Eindeutige Vorteile der Injektion gegenüber chirurgischen Techniken sind die einfache Handhabung und die geringen postoperativen Beschwerden, wodurch eine ambulante Anwendung möglich ist⁸. Die mit einer Vollnarkose verbundenen Kosten und Risiken können dadurch vermieden werden⁴⁶. Zudem kann die Volumenauffüllung durch die Injektion präziser durchgeführt werden. Ein deutlicher Nachteil ist, dass die meisten verfügbaren Produkte mit der Zeit resorbiert werden⁸. Grundsätzlich werden alle Materialien aus biologischem Gewebe, die an Stellen injiziert werden, wo dieses nicht natürlicherweise vorkommt, resorbiert. Für eine permanente Wirkung müssen synthetische Biomaterialien verwendet werden⁴⁷. Länger andauernde und zufriedenstellendere Ergebnisse könnten möglicherweise durch die Kombination mit anderen Behandlungsmethoden erreicht werden⁹.

2.2.1 Autologes Fettgewebe

Autologes Fettgewebe ist der älteste Soft tissue filler, dessen Anwendung als sicher gilt. Es handelt sich um ein biologisch kompatibles Material, für dessen Transplantation mehrere Schritte nötig sind. Zunächst wird subkutanes Fett von einer Entnahmestelle des Patienten gewonnen, anschliessend wird es aufbereitet und an die zu behandelnde Stelle injiziert. Gewonnen wird das Fett üblicherweise an den Hüften oder am Abdomen, wobei die Entnahme grundsätzlich aber fast überall möglich ist. Dabei ist zu beachten, dass bei der Gewinnung eine ästhetisch ansprechende Kontur beibehalten wird⁹.

Die Injektion von autologem Fettgewebe eignet sich hervorragend für die Korrektur von Volumendefiziten und Deformationen der Kontur fast aller Bereiche des Körpers⁴⁸. Durch den minimalinvasiven Charakter und die Tatsache, dass es sich um autologes Gewebe

handelt, ist die Anwendung von besonderem Interesse für die Brust¹⁰ und das Gesicht⁴⁸. Im Bereich der Brust ist Fettgewebe besonders für die Verbesserung von Deformationen der Kontur geeignet, wie z.B. bei erworbenen Defekten wie einer Tumorresektion¹⁰.

Ein Problem bei der Injektion von Fettgewebe ist der Umstand, dass ein nicht absehbarer Teil des Fettes resorbiert wird⁸. Vorzugsweise werden kleine Volumina injiziert, da es dann schneller zu einer Neovaskularisation kommt, wodurch mehr Adipozyten überleben. Zudem wurde nachgewiesen, dass sich pluripotente Stammzellen (sog. Adipose-derived adult stem cells) in abdominalem Fett befinden, die sich nach der Injektion zu Fett differenzieren und somit zum Effekt der Transplantation beitragen⁹. Nach der Injektion ist in der Regel mit leichteren Komplikationen wie Hämatomen und Schwellungen zu rechnen. Andere unerwünschte Effekte wie Fettnekrosen oder Infektionen treten dagegen selten auf. Gefässverschlüsse sind eine mögliche schwerwiegende Komplikation, die durch eine versehentliche intravaskuläre Injektion verursacht werden kann⁹. Bei der Injektion von autologem Fettgewebe in die Brust sind Infektionen, fühlbare Knoten in Form von Zysten, Fettnekrosen oder Kalzifikationen mögliche Risiken¹². Die Fettnekrosen und Kalzifikationen werden häufig bei bildgebenden Untersuchungen gesehen und gleichen den Veränderungen nach anderen Operationen der Brust. Dazu gehört auch die konservative Behandlung einer Neoplasie⁴⁹. Es gibt widersprüchliche Aussagen darüber, ob und wie gut diese Läsionen von malignen Veränderungen unterschieden werden können^{49,50}.

Die Injektion von autologem Fettgewebe ist kosteneffizient und hat das Potenzial, grosse Volumina zu füllen⁹. Bei der Anwendung im Zusammenhang mit der Brustrekonstruktion handelt es sich um eine reproduzierbare, sichere und im Vergleich zu anderen chirurgischen Techniken weniger invasive Methode¹¹. Die Erforderlichkeit von 2 Schritten sowie die Notwendigkeit von vorhandenen Fettdepots zur Gewinnung des Fettes sind Nachteile dieser Methode⁹. Zudem kommt es durch die Entnahme auch zu einer Beeinflussung der Spenderseite⁸. Ferner besteht weiterhin die Frage, ob die Transplantation von Fettgewebe die Entstehung von neuen Neoplasien oder Rezidiven auslösen bzw. fördern kann. Bisher gibt es dafür keine wissenschaftlichen Beweise, dennoch kann dies nicht mit Sicherheit ausgeschlossen werden¹².

Es wird vermutet, dass die Dauer des Effektes sowohl von der Patientin/dem Patienten, als auch von der Technik abhängt und in verhältnismässig wenig mobilen Regionen grösser ist⁹. In einer Studie zur Analyse der Veränderung des Volumens im Anschluss an die Transplantation von autologem Fettgewebe zur Brustrekonstruktion wurde

festgestellt, dass nach 5 Monaten noch circa 40-50% des injizierten Fettes vorhanden war⁵¹.

2.2.2 Kollagen

Kollagen ist ein unlösliches, extrazelluläres Protein, das den Hauptbestandteil von Bindegewebe darstellt⁴³, es unterstützt und stärkt die Haut des Menschen als Hauptkomponente der Dermis. Die Injektion von kollagenhaltigen Materialien ist eine häufig durchgeführte Methode zur Auffüllung von Weichteilgewebe⁵². Nach der Injektion entsteht ein zusammenhaltendes Netzwerk aus Fasern, in das Bindegewebszellen einwachsen. Dadurch gleichen Erscheinung und Textur normalem Gewebe. Anschliessend wird das injizierte Kollagen über Wochen bis Monate durch Kollagenasen und Entzündungszellen abgebaut⁴³.

Es werden verschiedene Typen von injizierbarem Kollagen unterschieden, die nach ihrer Herkunft in bovines und humanes Kollagen eingeteilt werden⁹. Das bovine Kollagen war das erste injizierbare kollagenhaltige Material⁹. Davon gibt es 3 verschiedene Produkte: Zyderm I®, Zyderm II® und Zyplast®, die sich in ihrem Gehalt an Kollagen bzw. Quervernetzungsgrad unterscheiden⁵². Humanes Kollagen wird aus dermalen Fibroblasten gewonnen. Verfügbare Produkte sind CosmoDerm I®, CosmoDerm II® und CosmoPlast®. Auch diese unterscheiden sich in ihrem Kollagengehalt bzw. Quervernetzungsgrad⁵². Humanes Kollagen sowie bovines Kollagen sind in einer mit Phosphat gepufferten Kochsalzlösung mit 0.3% Lidocain suspendiert⁹.

Bovines und humanes Kollagen sind von der FDA unter anderem zum Auffüllen der Lippen sowie bei nasolabialen Falten und Narben zugelassen⁹. Kontraindikationen für bovines Kollagen sind beispielsweise ein positiver Hauttest, eine bekannte Überempfindlichkeit gegen bovines Kollagen oder Lidocain und aktive Entzündungen oder Infektionen der Injektionsstelle⁹. Bei den Präparaten mit humanem Kollagen sind Hypersensitivitätsreaktionen auf diese Produkte und Allergien gegen Lidocain Kontraindikationen⁵².

Unerwünschte Wirkungen durch die Injektion, wie z.B. Hämatome, leichte Schwellungen, Erytheme und allergische Reaktionen auf bovines Kollagen, sind nicht unüblich. Seltener sind bakterielle Infektionen, lokale Nekrosen und Zysten bzw. Abszesse. Bei einer zu oberflächlichen Injektion kann es zu einer möglicherweise persistierenden Verfärbung der Haut kommen⁹.

Kollagen wurde wegen der guten Biokompatibilität für die Füllung von Weichteilgewebe genutzt⁵³ und ist leicht zu injizieren⁹. Zudem wurde durch die bereits lange Anwendung von bovinem Kollagen dessen Sicherheit und Zuverlässigkeit gezeigt, was den grössten Vorteil darstellt⁸. Nachteile sind die kurze Dauer des Effektes und die Möglichkeit einer allergischen Reaktion, weshalb im Vorfeld ein Hauttest durchgeführt werden muss. Dadurch kommt es zu einer Verzögerung der Behandlung⁸. Humanes Kollagen gleicht in Wirkung und Anwendung bovinem Kollagen, erfordert allerdings keinen Hauttest, da keine allergischen Reaktionen bekannt sind⁹. Zudem hat humanes Kollagen ein geringes Risiko von unerwünschten Wirkungen, eine verlängerte Langlebigkeit und ist generell sicherer⁵².

Bovines Kollagen hat von allen Soft tissue fillern mit 2-3 Monaten die geringste Wirkungsdauer⁹. Die Dauer des Effektes von CosmoPlast® hält hingegen ungefähr 4-6 Monate⁵⁴.

2.2.3 Hyaluronsäurederivate (HA)

Hyaluronsäure kann bei allen Wirbeltieren in derselben chemischen Struktur gefunden werden und wird auch von Bakterien⁵⁵ (*Streptococcus equi*⁵⁶) produziert. Sie ist ein Polysaccharid aus Glykosaminoglykanen⁹, kommt natürlicherweise in der Epidermis⁵⁵ und Dermis von Säugetieren vor⁹ und ist bei allen Spezies identisch⁸. Aufgrund dieser einzigartigen Eigenschaft sollten Produkte mit Hyaluronsäure keine Antigenität besitzen⁸. Hyaluronsäure gibt der Haut Volumen, Struktur und ihre Feuchtigkeit⁵⁶.

Die Grundbestandteile sind N-Acetyl-Glucosamin und Glukuronsäure, die zusammen ein Disaccharid ergeben, das sich wiederholt⁵⁶. Durch die Quervernetzung der Hyaluronsäure entstehen stabilere Moleküle, die länger im Gewebe erhalten bleiben und trotzdem die gleichen viskoelastischen Eigenschaften und dieselbe Biokompatibilität haben⁵⁷. Die Wirkung der Hyaluronsäure beruht auf der enormen Kapazität, Wasser zu binden⁹. Die hydrophilen Glykosaminoglykane binden Wasser in der extrazellulären Matrix⁸. Zusätzlich führt die Injektion nicht-tierischer, stabilisierter Hyaluronsäure zu einer Produktion von Kollagen Typ-I⁵⁸. In einer Studie wurde gezeigt, dass Hyaluronsäure die Fähigkeit hat, integriert zu werden und die Festigkeit des Gewebes zu erhöhen⁵⁹. Nach der Injektion wird die Hyaluronsäure zu Kohlendioxid und Wasser umgewandelt und vor allem über das Lymphsystem ausgeschieden⁹.

Unterscheiden lassen sich die Produkte anhand der Quelle der Hyaluronsäure, dem Vorhandensein von Quervernetzungen sowie ihrer Partikelgrösse und Konzentration⁶⁰.

Der erste hyaluronsäurehaltige dermale Füllstoff war Hylaform^{®55}. Hylaform[®] Plus entspricht weitgehend Hylaform[®], enthält aber grössere Partikel⁶⁰. Weitere Produkte sind Restylane[®] und Puragen[®], die beide mit Hilfe von Bakterien synthetisiert werden⁵⁵, und Juvéderm^{®61}.

Soft tissue filler mit Hyaluronsäure sind eine vielfältige Klasse und werden sehr häufig angewendet. Sie sind von der FDA zur Behandlung von moderaten bis schweren Falten um Mund und Nase zugelassen. Angewendet wird Hyaluronsäure on- und off-Label für die Volumenauffüllung und für Falten und Vertiefungen im Gesicht. Für eine Vergrößerung der Brust sollte Hyaluronsäure nicht verwendet werden⁹. Sie scheint bei der Fortschreitung von Brustkrebs eine ausschlaggebende Rolle zu spielen⁶² und trägt möglicherweise zur Entstehung von Metastasen bei⁶³.

Häufige kurzfristige Nebenwirkungen sind unter anderem Schwellungen, Rötungen, Hämatome und Schmerzen im Bereich der Injektionsstellen⁹. Diese meist milden Folgen klingen in der Regel in weniger als einer Woche ab⁵⁶. Unübliche kurzfristige Folgen sind eine Überkorrektur oder Nekrosen an der Injektionsstelle. Sichtbarkeit des Materials, Überempfindlichkeiten und Knötchenbildung sind mittelfristige Auswirkungen⁹.

In der ästhetischen Medizin wird Hyaluronsäure häufig angewendet, da sie zu einer erhöhten Widerstandsfähigkeit des Gewebes gegenüber mechanischen Einflüssen und einer verbesserten Hydratation führt. Darüber hinaus ist sie biokompatibel und vollständig resorbierbar⁶⁴. Vorteile von Hyaluronsäure sind ein geringes Risiko für eine Hypersensitivität, der sofortige und langandauernde Effekt, die einfache und schnelle Anwendung sowie die geringe Rekonvaleszenzzeit⁶⁵. Die Anwendung ist ausserdem sicher und durch die Möglichkeit der Injektion von Hyaluronidase reversibel. Zudem ist das Ergebnis vorhersehbar, direkt und natürlich⁶⁶. Hyaluronsäure wird als natürlicher Bestandteil der Haut allerdings mit der Zeit abgebaut und resorbiert. Daher sind wiederholte Behandlungen notwendig⁶⁵.

Über die Dauer des Effektes gibt es nur wenige objektive Daten. Sie wird auf 4 bis 6 Monate geschätzt⁹.

2.2.4 Calcium Hydroxylapatit (CaHA)

Calcium Hydroxylapatit ist ein (natürlicher) Bestandteil von Knochen. In injizierbaren Präparaten (wie Radiesse[®]) ist es synthetischen Ursprungs, aber identisch zu dem in Knochen. Darin begründet liegt die naturgemässe Biokompatibilität. Der injizierbare Soft tissue filler besteht zu 30% aus Calcium Hydroxylapatit in Form von 25-45 µm grossen

sphärischen Partikeln, die in einem Natrium-Carboxymethylcellulose Gel suspendiert sind. Die Volumenzunahme nach der Injektion beruht auf der Verdrängung des umgebenden Gewebes bei der Injektion. Das Gel wird im Anschluss resorbiert und für die Stimulation der Kollagenformation in und um die Mikrosphären verantwortlich gemacht⁹. Das neu entstandene Gewebe ist identisch mit dem umliegenden Gewebe⁶⁷. Durch seinen Wirkungsmechanismus wird das Material als biostimulatorischer Filler bezeichnet⁶⁸. Die Partikel werden nach der Injektion über Monate bis Jahre langsam phagozytiert und über physiologische metabolische Prozesse abgebaut. Anschliessend werden sie, wie beim Remodelling von Knochen, als Calcium- und Phosphat-Ionen über den Urin ausgeschieden. Dieser langsame Abbau wird zusammen mit der Kollagenproduktion als Ursache für den verlängerten kosmetischen Effekt gesehen⁹.

Calcium Hydroxylapatit (Radiesse®) ist für die Behandlung von moderaten bis schweren Falten und für den Verlust von Weichteilgewebe im Gesicht infolge einer HIV abhängigen Lipoatrophie von der FDA zugelassen⁹. Es kann für viele verschiedene Bereiche im Gesicht, wie z.B. der perioralen Region, den Lippen und der Nase, verwendet werden⁴². Auch die Behandlung von Akne-Narben ist mit Radiesse® möglich⁶⁹. Zudem ist es als Gewebemarkers, für die Vergrösserung der Stimmbänder und bei kraniofaszialen Defekten zugelassen⁹. Für die Behandlung der stressbedingten Urininkontinenz der erwachsenen Frau ist das Produkt Coaptite® zugelassen⁹. Kontraindikationen für die Anwendung von Radiesse® sind z.B. keloide Narben, akute oder chronische Infektionen des Bereichs der geplanten Injektion, eine Blutungsstörung und systemische Kollagenkrankheiten⁶⁷.

Die Injektion sollte an der Grenze zwischen Dermis und subkutanem Gewebe erfolgen. Wird zu oberflächlich injiziert, kann es zu Knötchenbildung kommen. Bei einer zu tiefen Injektion kommt es zu einem Verlust von Material im subkutanen Raum, wodurch der Effekt geringer ist⁹. Bei einer Studie zur Behandlung der HIV-assoziierten Lipoatrophie konnte das injizierte Material direkt nach der Injektion palpiert werden. Bereits 2 Wochen später war das Implantat in der Regel nicht mehr fühlbar⁷⁰. Lemperle *et. al.* beschreiben ebenfalls, dass nach der Injektion eines CaHA-haltigen Materials das Implantat in der Regel palpiert werden konnte. Im Laufe der Zeit verminderte sich die palpierbare Grösse und nach 9 Monaten war klinisch kein Material mehr zu identifizieren⁴⁴. Histologisch konnte nahezu keine Fremdkörperreaktion beobachtet werden⁴⁴. Nach der Applikation konnte in einer anderen Studie zunächst eine minimale Reaktion der Makrophagen und anschliessend eine fibröse Reaktion auf die Calcium Hydroxylapatit Partikel gesehen

werden⁷¹. 6 Monate nach der Injektion waren die einzelnen Mikrosphären in der Studie von Lemperle *et al.* von fibrösem Gewebe umgeben. Nach 9 Monaten war eine langsame Adsorption der Mikrosphären sichtbar⁴⁴.

Komplikationen, die oft auftreten, sind Hämatome, vorübergehende Erytheme und Schwellungen⁹, die häufigste ist die Entstehung von Knötchen. Mögliche Ursachen sind eine fehlerhafte Anwendung des Materials, Folgen der Schwerkraft bzw. von Muskelkontraktionen oder eine granulomatöse Fremdkörperreaktion⁶⁸. Es sind grundsätzlich keine ernsthaften Komplikationen bekannt⁹. In einer Pilotstudie von Marmur *et al.* konnte keine Fremdkörperreaktion, Granulombildung oder Ossifikation festgestellt werden⁷¹.

CaHA ist hoch biokompatibel und eignet sich mit guten ästhetischen Ergebnissen und einer langen Dauer des Effektes für verschiedene Indikationen⁷². Weitere Vorteile sind die lange Lagerbarkeit und fehlende Notwendigkeit eines Hauttests⁴³. Weitere Eigenschaften sind der direkt vorhandene ästhetische Effekt und die langanhaltende, aber nicht permanente Wirkung von Radiesse^{®67}. Zudem ist die Kosten-Nutzen-Effizienz gut und unerwünschte Effekte treten selten auf⁴². Die meisten Patienten benötigen allerdings eine Wiederholungsbehandlung nach 12 Monaten⁶⁷. Ein Nachteil von Radiesse[®] ist, dass es häufig zur Entstehung von Knötchen kommt, besonders nach einer Injektion in die Lippen⁴³.

In einer Studie zur vollständigen Degradierung von CaHA konnten 2.5 Jahre nach der Applikation mit Hilfe einer MRT-Untersuchung keine Rückstände des CaHAs gesehen werden. Diese Beobachtung spricht dafür, dass das Material vollständig resorbiert wurde⁷². Auch in einer weiteren Studie, bei der CaHA mittels CT dargestellt wurde, waren die CaHA-Partikel durch die Resorption im Laufe der Zeit deutlich seltener erkennbar⁷³. Die durchschnittliche Dauer der sichtbaren Volumenzunahme liegt zwischen 18 bis 24 Monaten⁶⁷.

2.2.5 Polymethylmethacrylat (PMMA)

PMMA wird zusammen mit bovinem Kollagen als injizierbares Füllmaterial für die Haut verwendet. Dadurch werden zwei häufig genutzte und biokompatible Stoffe kombiniert, was zu einer zufriedenstellenden Biokompatibilität führt⁷⁴. Dieses Material ist eine Suspension, die aus einer Gel-Trägersubstanz mit 3.5% bovinem Kollagen und zu 20% aus nichtresorbierbarem PMMA in Form von 30-50 µm grossen sphärischen Partikeln besteht⁹. Diese Mikrosphären sind gross genug, um der Phagozytose zu entgehen. PMMA

ist biokompatibel, chemisch inaktiv und durch die fehlende Phagozytose nicht biologisch abbaubar⁹. Die kollagenhaltige Trägersubstanz wird 1-3 Monate nach der Injektion abgebaut und das nicht abbaubare PMMA bleibt bestehen⁹. Die Mikrosphären stimulieren eine konstante Produktion von Bindegewebe, für das sie als Gerüst dienen⁴⁴. Das bovine Kollagen ermöglicht als Separation zwischen den Mikrosphären das Einwachsen von neuem Gewebe und verhindert das Verklumpen der PMMA-Partikel⁷⁴. Erst wenn nach circa 3 Monaten alle Mikrosphären von Kollagen und Fibrozyten umgeben sind, kann der endgültige Effekt gesehen werden⁴⁷. Die PMMA-Partikel werden vollständig in das Bindegewebe integriert und es findet ein konstanter Austausch von Zellen wie Makrophagen und Fibroblasten statt⁷⁴.

Arteplast® war das Produkt der ersten Generation⁷⁵, das aus PMMA-Mikrosphären mit einem Durchmesser von 20-40 µm bestand⁷⁶. Das darauf folgende Präparat Artecoll®⁴⁷ ist zurzeit nicht von der FDA zugelassen⁴¹. Die Hauptbedenken waren Erytheme, Narbenbildung mit Kontraktionen und die Palpierbarkeit⁷⁷. ArteFill® ist ein verbessertes Produkt. Es enthält 20% 30-42 µm grosse PMMA-Mikrosphären in boviner Kollagenlösung, der 0.3% Lidocain zugesetzt ist⁷⁸.

Zugelassen ist PMMA von der FDA zur Behandlung nasolabialer Falten. Off-Label wird es für tiefe Falten in anderen Regionen und für Konturdefizite oder -deformationen genutzt⁹. Kontraindikationen sind beispielsweise ein positiver Hauttest, eine Überempfindlichkeit gegen Lidocain oder Produkten mit bovinem Kollagen, schwere Allergien mit Anaphylaxie in der Vergangenheit oder aktive Entzündungen im Injektionsbereich⁹.

Blutungen, Erytheme und Hämatome sind die häufigsten vorübergehenden unerwünschten Nebenwirkungen⁹. Zudem kann es unter anderem zur Verklumpung des Materials, zu einer erhöhten Sensibilität der Haut, einer persistierenden Schwellung oder Rötung und zu Granulomen kommen⁷⁹. Die Abwesenheit von Partikeln unter 20 µm wird als mögliche Ursache für die verringerte Entwicklung von Granulomen gesehen⁷⁴.

Trotz der höheren Kosten im Vergleich zu Kollagen und Hyaluronsäure ist ArteFill® ökonomischer, da bei der Injektion weniger Material verloren geht und der Effekt zu späteren Zeitpunkten grösser ist⁷⁸. Das Verhältnis von Risiken zu Nutzen ist als sehr gut zu bewerten, da die unerwünschten Effekte bei der Injektion dieselben wie bei anderen Produkten sind und gleichzeitig durch den langen Effekt weniger Injektionen benötigt werden⁸⁰. Allerdings besteht aufgrund des enthaltenen Kollagens die Möglichkeit einer allergischen Reaktion⁷⁸. Ein vorheriger Allergietest ist daher in vielen Ländern

obligatorisch⁷⁸. Die richtige Auswahl der Patienten ist bei einem permanenten Material besonders wichtig⁸¹. Des Weiteren sind Komplikationen zwar selten, aber oft dauerhaft⁸². Trotz der Argumente über ein vermindertes Risiko durch einen verbesserten Herstellungsprozess bleiben Bedenken bezüglich der Entstehung von Granulomen⁸³. PMMA ist ein sehr lang anhaltender bis permanenter Soft tissue filler⁹. Die Dauer des Effektes wird in den USA mit über 5 Jahren und in Europa und Kanada mit über 10 Jahren angegeben⁹.

2.2.6 Poly-L-lactic acid (PLLA)

PLLA ist ein synthetisches⁸⁴, biokompatibles und biologisch abbaubares⁸⁵ injizierbares Polymer aus Milchsäure⁹. Das kommerzielle Produkt enthält neben den 40-63 µm grossen PLLA-Mikropartikeln noch Natrium-Carboxymethylcellulose und Mannitol⁹. Die Grösse der Partikel ist klein genug für eine einfache Injektion und ausreichend gross, um eine Phagozytose durch Makrophagen zu umgehen⁸⁴. PLLA führt nicht zu einer direkten mechanischen Korrektur eines Volumendefizites, sondern zu einer Volumenzunahme durch die Stimulation einer fibrösen Reaktion des Gewebes⁹. Die Kollagenproduktion führt zu einer allmählichen Steigerung des Volumens und einer langfristigen Korrektur. Deshalb ist eine Überkorrektur zu vermeiden⁸⁴. Die PLLA-Mikropartikel werden über physiologische enzymatische Prozesse zu Milchsäure, anschliessend zu Pyruvat und dann zu Kohlendioxid und Wasser abgebaut⁹.

NewFill® ist ein Produkt mit injizierbarer PLLA, das in der europäischen Union zugelassen ist⁸⁴. Es darf seit 1999 in der Kategorie der «wrinkle filler» und seit 2004 zur Behandlung der Lipoatrophie infolge einer Infektion mit HIV angewendet werden⁸⁶. Sculptra® wurde von der FDA für die Korrektur der Lipoatrophie bei Menschen mit einer HIV-Infektion⁸⁴ und 2009 zusätzlich Sculptra® Aesthetic für ästhetische Indikationen zugelassen⁴¹. NewFill® und Sculptra® sind, bis auf kleinere Verpackungsunterschiede, identisch⁸⁷. PLLA eignet sich besser für eine Volumenkorrektur, z.B. bei einer Atrophie des Fettgewebes im Gesicht, als für isolierte Furchen. Sculptra® kann in vielen Bereichen des Gesichtes verwendet werden. In der Literatur wird aber auch die Anwendung für Bereiche ausserhalb des Gesichtes beschrieben⁸⁸. In einem Fallbericht wurde Sculptra® erfolgreich bei einer persistierenden Deformation der Brustwand infolge einer Brustrekonstruktion mit Implantaten bei einer sehr schlanken Frau angewendet. Sculptra® könnte für eine Korrektur nach Teilresektionen oder grossen Biopsien der Brust möglicherweise eine minimalinvasive und nützliche Behandlungsalternative sein. Eine

Abklärung, ob es zu einer Beeinflussung der Mammografie kommt, wäre nötig⁸⁹. Kontraindikationen für die Anwendung von PLLA sind Entzündungen oder aktive Infektionen der Haut und bekannte Allergien⁸⁴.

Akute Nebenwirkungen können, wie bei jeder Injektion, in Form von Ödemen, Erythemen und Blutungen auftreten. Die Entstehung von Knoten ist typisch für PLLA. Sie können sich durch eine mechanische Verklumpung des Materials oder als Fremdkörpergranulom einige Wochen bis Monate nach der Injektion entwickeln⁹.

PLLA ist sicher und effektiv, wenn es für geeignete Regionen verwendet und in die richtige Ebene injiziert wird⁹⁰. Die Wirkung von Sculptra® Aesthetic ist vorhersehbar und es ist leistungsfähig⁸⁵. Ausserdem ist der Effekt im Vergleich zu den momentan verfügbaren nicht-permanenten Materialien längerfristiger⁸⁷. Die fehlende Möglichkeit der intradermalen Anwendung ist ein Nachteil von PLLA⁹¹. Zudem besteht die bereits beschriebene Neigung zur Knotenbildung⁹. Durch eine fachkundige und vorsichtige Anwendung können potenzielle unerwünschte Effekte allerdings vermieden werden⁸⁸. Ferner können die Kosten abhängig von der verwendeten Menge erheblich sein⁸⁹.

Die korrigierende Wirkung hält in der Regel für 18 bis 24 Monate⁸⁴, kann aber bis zu 3 Jahre vorhanden sein⁹².

2.2.7 Zusammenfassung

Kriterien für das ideale Material sind ein langanhaltender Effekt, geringe Kosten, eine einfache Lagerung sowie Anwendung. Die Mindestanforderungen der Biokompatibilität müssen von allen Materialien erfüllt werden. Auch wenn es einige Produkte gibt, die bereits angewendet werden, gibt es keines, das alle diese Kriterien erfüllt⁸.

Um die Sicherheit und Funktion eines neuen Medizinproduktes vor der Anwendung beim Menschen zu ermitteln, spielen präklinische Untersuchungen in Tierversuchen eine wichtige Rolle⁹³.

2.3 Tiermodell

Für die Beurteilung der Biokompatibilität von Medizinprodukten sind in vivo Modelle noch immer von zentraler Bedeutung, da die Biokompatibilität nur zum Teil mit den verfügbaren in vitro Tests überprüft werden kann⁹⁴. Ein Unterschied der beiden Methoden liegt darin, dass das Material in vivo mit einer grossen Anzahl von Zelltypen konfrontiert wird, wogegen bei der in vitro Testung jeweils nur ein Zelltyp verwendet wird.⁹⁵ Nur im Tiermodell kann die Gesamtheit der biologischen Abläufe dargestellt werden⁹⁶.

Die Auswahl des Tiermodells hängt von der Verfügbarkeit, der vorhandenen Infrastruktur, den Kosten und den anatomischen und physiologischen Gemeinsamkeiten mit dem Menschen ab⁹⁷. Ein gutes Tiermodell muss sicher, reproduzierbar, einfach und zuverlässig sein⁹⁷.

Schweine werden häufig als Tiermodell eingesetzt, was unter anderem daran erkannt werden kann, dass ihre Verwendung von 2002 bis 2008 um 15% zugenommen hat (Gesamtwert für Kanada, EU, Japan und USA). Auch die Publikationen, in denen Schweine als Tiermodell genannt werden, sind bis 2010 stetig gestiegen⁹⁸. Domestizierte Schweine haben physiologische Gemeinsamkeiten mit dem Menschen, aber den Nachteil, dass sie aufgrund ihres Gewichtes sowie ihrer Grösse schwer zu halten sind und der Umgang mit ihnen kompliziert ist. Um diese Probleme zu umgehen, wurden Minipigs gezüchtet, die dem Menschen physiologisch und anatomisch stark ähneln, durch ihre geringe Grösse aber leichter zu halten und zu kontrollieren sind⁹⁷. Allerdings entstehen bei der Nutzung von Minipigs für die Forschung hohe Kosten und es gibt besondere Anforderungen an die Anästhesie und die postoperative Betreuung⁹⁷. Dennoch stellen sie bei einer adäquaten Rechtfertigung eine vertretbare nicht-Nager Spezies als Tiermodell dar⁹⁹. Zudem wird auch die Dauer des Tests bezogen auf die Lebenserwartung der Spezies bei längeren Untersuchungen als Argument für die Nutzung von Grosstieren anstelle von Nagern beschrieben¹⁰⁰. Beispiele für häufig verwendete Minipig-Rassen sind Göttingen, Sinclair und Yucatan¹⁰¹.

Im Umgang mit Schweinen ist es wichtig, für eine möglichst stressfreie Umgebung zu sorgen, da Stress und Angst, aber auch längere Zeiträume ohne Futter sowie Schmerzen die Entwicklung von Magenulzera fördern können¹⁰².

Schweine haben in vielen Organsystemen Gemeinsamkeiten mit dem Menschen⁹⁸, wie z.B. dem kardiovaskulären System, dem Gastrointestinaltrakt, dem Harnsystem und besonders der Haut¹⁰³. Das Schwein ist das Säugetier, dessen Haut der des Menschen am meisten ähnelt⁹⁷.

Gemeinsamkeiten der Haut bei Schwein und Mensch sind die dicke Dermis¹⁰⁴ und Epidermis¹⁰⁵, die feste Verbindung der Haut mit den unterliegenden Strukturen und die spärliche Behaarung¹⁰⁶. Weitere Übereinstimmungen sind in der Zusammensetzung des Fettfilms und den epidermalen Enzymmustern der Haut zu finden⁹⁷. Die Anforderungen für ein Modell der menschlichen Haut werden daher am besten von domestizierten Schweinen erfüllt¹⁰⁵.

Mäuse und Ratten haben zwar den gleichen Grundaufbau der Haut aus Epidermis und Dermis wie der Mensch, diese Hautschichten unterscheiden sich allerdings physiologisch und histologisch von denen des Menschen¹⁰⁶. Sowohl die Dermis als auch die Epidermis sind bei Maus, Ratte und auch bei Kaninchen dünner als bei Menschen und sie haben, im Gegensatz zum Menschen, eine dichte Behaarung⁹⁷. Zudem gehören sie zu den sogenannten «loose-skinned animals» und haben einen fest mit der Basis verbundenen, dünnen Muskel (Panniculus carnosus)¹⁰⁴. Auch der Vergleich von Hunden und Katzen mit dem Menschen ist durch das dichte Fell nur sehr eingeschränkt möglich¹⁰⁵.

Genutzt werden Tiermodelle im Bereich der Soft tissue filler, um beispielsweise die Eigenschaften unterschiedlicher Füllmaterialien und somit deren Eignung für die jeweilige Indikation zu verstehen¹⁰⁷. Ein weiterer Anwendungsbereich ist die präklinische Untersuchung der Biokompatibilität neuer Tissue filler¹⁰⁸.

Für die Beurteilung neuer Tissue filler gibt es kein spezifisches Tiermodell, das allgemein als Standard anerkannt wird¹⁰⁹. Es wurden aber bereits Ratten¹⁰⁹, Mäuse¹¹⁰, Schweine^{53,111-113} und Kaninchen^{110,114} als Tiermodelle verwendet¹⁰⁸. Schweine wurden unter anderem genutzt zur Untersuchung des Effektes von Laserbehandlungen auf hyaluronsäurehaltige Soft tissue filler (Haut am Abdomen)¹¹¹ und zur Charakterisierung eines neuen injizierbaren Polyelektrolyt-Komplex Hydrogels als dermales Füllmaterial (Dermis dorsal an den Ohren)¹¹³. Eine weitere Studie mit Schweinen wurde zur Beurteilung der Biokompatibilität und lokaler Gewebereaktionen bei der Entwicklung eines schnell polymerisierenden Soft tissue fillers aus Kollagen durchgeführt (subkutan im Bereich der Ohren)¹¹⁵. Ratten wurden beispielsweise in einer Studie mit hyaluronsäurehaltigen Soft tissue fillern¹⁰⁹ sowie mit Dextran und PMMA¹¹⁶ als Tiermodell gewählt. Beispiele für die Verwendung von Kaninchen sind die Überprüfung eines kollagenhaltigen Materials¹¹⁴ sowie eines Polyacrylamid Gels¹¹⁷. Mäuse wurden z.B. in einer Studie zur Ischämie durch die Anwendung von injizierbaren Soft tissue fillern eingesetzt¹¹⁸. Zudem wurden Ratten und Sinclair Minipigs in einer Studie über die Unterschiede in der Reaktion auf einen injizierbaren biologisch abbaubaren Tissue filler zwischen verschiedenen Spezies genutzt. Den Ratten wurde das zu testende Material (Polyester aus Rizinusöl und Zitronensäure) und ein hyaluronsäurehaltiges Präparat (Macrolane) als Kontrolle subkutan in die Flanke injiziert. Den Schweinen wurden die gleichen Materialien subkutan ventral neben den Milchdrüsen injiziert¹⁰⁸.

2.4 Biokompatibilität

1999 definierte D. F. Williams die Biokompatibilität als die Fähigkeit eines Materials, in einer bestimmten Situation mit einer angemessenen Reaktion des Körpers zu funktionieren¹¹⁹. Biokompatibilität wird auf eine *bestimmte Situation* bezogen definiert, da sich die Reaktion des Körpers je nach Anwendungsstelle unterscheiden kann²⁸. Diese Reaktionen basieren auf Prozessen, die auch natürlicherweise stattfinden. Die Biokompatibilität kann nicht nur je nach Anwendung, sondern auch zwischen einzelnen Patienten unterschiedlich sein. Zudem wird zunehmend eine bestimmte Funktion und zum Teil auch eine Degradation von Materialien erwartet²⁸. Bei Stoffen, die degradieren sollen, ist eine Veränderung und somit kein stabiles Gleichgewicht gewünscht. Während der Degradation sollen diese eine bestimmte Aufgabe erfüllen. Die Anwesenheit von Entzündungszellen gehört zur Reaktion des Körpers auf diesen Vorgang, sollte aber klinisch auf ein «akzeptables» Mass beschränkt sein²⁸. Nicht resorbierbare Materialien können im Rahmen einer Fremdkörperreaktion vom umliegenden Gewebe abgegrenzt werden¹²⁰.

Eine Fremdkörperreaktion ist eine Störung der Heilung einer Gewebeverletzung durch die Anwesenheit eines implantierten Biomaterials⁹⁴. Der Grad der Störung der homöostatischen Mechanismen des Organismus und der pathophysiologischen Auswirkungen bestimmen die Biokompatibilität eines implantierten Biomaterials. Ein tiefgreifendes Verständnis der Fremdkörperreaktion ist daher eine Voraussetzung für die Entwicklung neuer Biomaterialien. Aufgrund der Implantation wird eine Abfolge von Reaktionen ausgelöst. Die erste Phase dient der Neutralisation bzw. Eingrenzung des Fremdkörpers. Anschliessend kommt es in der zweiten Phase zur Wundheilung mit dem Ziel der Rekonstruktion oder Reparatur des Gewebes¹²⁰.

Direkt nach der Implantation des Biomaterials entsteht in dessen Umgebung eine provisorische Matrix durch die Adsorption von Proteinen aus dem Blut. Durch diese Matrix werden biochemische, strukturelle und zelluläre Komponenten für die Wundheilung und Fremdkörperreaktion geliefert¹²¹. Im Anschluss daran kommt es zu einer akuten Entzündung, bei der überwiegend neutrophile, aber auch eosinophile und basophile Granulozyten beteiligt sind. Darauf folgt eine chronische Entzündungsreaktion¹²⁰, die durch die persistierende Stimulation durch den Fremdkörper¹²² ausgelöst wird. In dieser Phase bestehen die Zellen hauptsächlich aus mononukleären Zellen wie Makrophagen sowie Lymphozyten und auch Plasmazellen sind vorhanden. Zudem werden Bindegewebe und Blutgefässe gebildet¹²⁰. Die Dauer

dieser chronischen Entzündung ist bei biokompatiblen Materialien auf circa 2 Wochen beschränkt¹²⁰. Bei der sich anschliessenden Wundheilung kann es zur Entstehung von Granulationsgewebe durch Fibroblasten und endothelialen Zellen kommen. Granulationsgewebe wird gebildet, wenn eine vollständige Herstellung des ursprünglichen Zustandes nicht möglich ist¹²⁰. Es ist der Vorläufer für die Bildung einer fibrösen Kapsel¹²¹. Das Vorhandensein von Granulationsgewebe in Kombination mit Makrophagen und/oder Fremdkörperriesenzellen bei implantierten Materialien wird als Fremdkörperreaktion bezeichnet¹²⁰. Fremdkörperriesenzellen gehören zu den multinukleären Riesenzellen¹²³. Sie entstehen, wenn das Fremdmaterial für die Phagozytose durch Makrophagen zu gross ist durch deren Fusion⁴⁵ und sind somit nicht grundsätzlich mit Granulomen verbunden⁴⁵.

Wenn das Fremdmaterial nicht beseitigt werden kann, versucht der Körper diesen/dieses gegenüber der Umgebung abzugrenzen, ein Granulom¹²⁴ oder eine fibröse Kapsel¹²⁰ entsteht. Ein Granulom ist eine Reaktion auf Bakterien, Fremdkörper, Pilze oder Eier von Parasiten, die Ursache kann aber auch unbekannt sein⁴⁵. Es lassen sich 2 Formen von Granulomen unterscheiden. Eine Form ist das noduläre (tuberkuloide) Granulom, das vor allem unter dem Einfluss von Th1-Lymphozyten entsteht. Es verkörpert die klassische granulomatöse Entzündung und hat eine typische konzentrische Schichtung. Oft zeigt sich ein mittlerer Nekrosebereich mit Zelldetritus. Darum befinden sich Makrophagen, Epitheloidzellen und mehrkernige Riesenzellen, die einen Wall bilden. Dieser wiederum wird von Makrophagen, T- und B-Lymphozyten und Plasmazellen begrenzt. Im Laufe der Zeit kann es zur Bildung einer Bindegewebskapsel kommen, die als Abgrenzung zum umliegenden Gewebe dient. Die zweite Form ist das sogenannte lepromatöse Granulom, das sich nur undeutlich abgrenzen lässt und eine diffuse Verteilung der Entzündungszellen zeigt¹²⁵. Bei einem Fremdkörpergranulom sind häufig Partikel des Fremdkörpers innerhalb der Fremdkörperriesenzellen¹²⁶ und manchmal auch dystrophische Verkalkungen¹²⁷ zu erkennen. Bei den meisten inaktiven Biomaterialien kommt es dagegen zur Entstehung einer dünnen Kapsel aus Kollagen und Fibroblasten. Die Ausprägung dieser Reaktion nimmt mit steigender Biokompatibilität ab¹²⁸.

Weitere Einflüsse auf die Biokompatibilität stellen unter anderem Interaktionen zwischen dem Biomaterial und den Zellen, die Kolonisation mit extrinsischen Mikroorganismen, die Toxikologie und mechanische Effekte dar⁹⁵. Zudem wird die Fremdkörperreaktion massgeblich durch die Oberfläche des Materials beeinflusst¹²⁰. Materialien mit einer porösen Struktur führen zur Bildung von vaskularisiertem Gewebe mit wenig Fibrose⁹⁵.

2.5 In vivo Untersuchung der Biokompatibilität

Für die präklinische Untersuchung der Sicherheit eines neuen Materials sollten vor einer in vivo Überprüfung nach Möglichkeit immer in vitro-Screenings durchgeführt werden. Damit kann die Durchführung von in vivo Tests reduziert werden¹²⁹. Bei in vitro Zytotoxizitätstests können z.B. besonders stark irritierende Bestandteile identifiziert werden, bevor in vivo Studien durchgeführt werden⁹³. Das Hauptziel der Beurteilung der in vitro Biokompatibilität ist, das Ausmass der Konsequenzen auf Zellen in Kultur festzustellen⁹⁵.

Da nicht alle Bereiche der Biokompatibilität bei den vorhandenen in vitro Versuchen untersucht werden können, spielen in vivo Tests weiterhin eine zentrale Rolle⁹⁴. Zudem müssen die Ergebnisse der in vitro Untersuchungen in vivo bestätigt werden¹³⁰. Die Auswahl der in vivo Tests zur Beurteilung der Biokompatibilität wird entsprechend der geplanten Nutzung des Biomaterials getroffen. Dabei spielen die Art des Gewebes, mit dem das Material in Kontakt kommt, sowie die Kontaktdauer eine Rolle. Es gibt eine Reihe von möglichen Tests, zu denen die Untersuchungen auf mögliche Irritationen, Sensibilisierungen oder intrakutane bzw. intradermale Reaktivitäten gehören⁹³. Zudem kann ein Implantationstest angewendet werden, bei dem das zu testende Material an einer angemessenen Stelle in den Körper implantiert wird. Die Tiere werden im Anschluss klinisch beobachtet und nach der Euthanasie werden makroskopische und mikroskopische Untersuchungen durchgeführt. Die Ergebnisse werden für die Auswertung mit Negativkontrollen verglichen¹³¹. Dadurch werden mögliche lokale pathologische Prozesse in lebendem Gewebe dargestellt. Histologisch werden verschiedene Parameter wie Entzündungszellen, einwachsendes Gewebe, Nekrosen, Degeneration von Gewebe und Granulome berücksichtigt⁹³. Des Weiteren können Kalzifikationen, fibröse Einkapselungen¹²², die Stabilität bzw. Degradation und die Migration im Verlauf der Zeit beurteilt werden¹³². Quantitativ können z.B. die mononukleären Zellen gezählt oder die Dicke der Kapsel gemessen werden¹³².

Bei in vivo Tests eines «biokompatiblen» Materials ist eine normale Fremdkörperreaktion in Form einer sich nach 2-3 Wochen selbstlimitierenden, milden Entzündungsreaktion mit einer dünnen fibrösen Kapsel zu erwarten⁹⁵. Diese normale Entzündung um das implantierte Material führt im Fall von biologisch abbaubaren Produkten möglicherweise zu deren Absorption¹²⁷.

2.6 Bildgebende Verfahren zur Darstellung injizierter Materialien

Die steigende Anzahl an verfügbaren injizierbaren Produkten zur Volumenauffüllung, verbunden mit der teilweise unklaren Behandlungsgeschichte, kann besonders bei auftretenden Komplikationen ein Problem darstellen¹³³. Bei der Diagnostik und Differenzierung von Komplikationen dermaler Füllstoffe sind bildgebende Verfahren ein wichtiger Bestandteil¹³⁴. Neben der Sonografie stehen auch andere bildgebende Verfahren wie CT und MRT für die Untersuchung von Füllmaterialien zur Verfügung¹³³.

Mit Hilfe der hochfrequenten Ultraschall-Diagnostik ist es möglich, die Lokalisation und die Menge eines dermalen Füllmaterials darzustellen¹³⁵. Es können genaue Messungen des Materials durchgeführt und auch Veränderungen, wie eine Absorption oder Migration, dargestellt werden. In Kombination mit einer Beurteilung der oberflächlich sichtbaren Merkmale kann ein gutes Gesamtbild erzeugt werden¹³⁶. Neben den Informationen zum Bestehen, der Lokalisation und Ausdehnung der Reaktion gibt die Ultraschall-Diagnostik auch Hinweise auf mögliche Pathologien, wie Fibrosen und Granulome¹³⁷. Auch für die Differenzierung zwischen Fremdkörpergranulomen und persistierenden Ablagerungen des injizierten Materials in Form von Knoten ist die Ultraschalluntersuchung eine nützliche Methode¹³⁸. Zudem werden bei der Volumenauffüllung von Weichteilgewebe eine gewisse Fibrose und Fremdkörperreaktion erwartet. Diese sind an dem gewünschten Effekt beteiligt. Daher muss bei der Beurteilung zwischen dem zu erwartenden und einem gesteigerten Ausmass dieser Reaktion unterschieden werden. Das ist mit einer sonografischen Untersuchung nicht immer einfach¹³⁷.

Die Ultraschalluntersuchung wird wegen der guten Verfügbarkeit häufig als erste Wahl zur Diagnostik durchgeführt, obwohl sie einige Nachteile hat. Beispielsweise sind keine anatomischen Orientierungspunkte vorhanden, die Beurteilung ist von der durchführenden Person abhängig und es gibt keine fundierten Kriterien zur Diagnose von Entzündungsreaktionen. Wegen dieser Nachteile könnte die MRT-Untersuchung als ergänzende Methode empfohlen werden¹³⁹. Das MRT ist eine nicht invasive Methode⁷², die keine ionisierende Strahlung erzeugt¹³⁹. Sie eignet sich zur Darstellung von dermalen Füllmaterialien, die sich in ihrer Relaxationszeit von normalem subkutanem Gewebe unterscheiden⁷². Ferner können anhand der MRT Bilder Veränderungen im Gewebe dargestellt und charakterisiert werden⁷². Zudem kann zwischen Komplikationen, wie einer Migration, Fibrose oder granulomatösen Reaktion, differenziert werden¹³⁹. Darüber hinaus lässt sich eine Migration durch erkennbare anatomische Orientierungspunkte und

die multiplanare Darstellung gut nachweisen¹³⁹. Eine Identifizierung des genauen Materials ist allerdings häufig nicht möglich¹³³. Zudem sind durch die hohen Kosten, den begrenzten Zugang und die Röntgenstrahlen beim CT weder MRT noch CT eine gute Option¹³⁸.

3 Material und Methoden

3.1 Aufbau der Studie

Die Studie wurde entsprechend der gesetzlichen Vorgaben des schweizerischen Tierschutzgesetzes durchgeführt und vom kantonalen Veterinäramt Zürich unter der Bewilligungsnummer ZH 024/18 genehmigt.

Bei dieser Studie gab es eine Versuchsgruppe mit 3 adulten Schweinen der Rasse Göttinger Minipigs. Bei jedem dieser Tiere wurden in einer ersten Anästhesie 12 Injektionen subkutan im Bereich der Mammaleiste jeweils zwischen 2 Zitzen und ca. 1-2 cm medial dieser durchgeführt. Davon erfolgten 6 Injektionen auf der rechten und 6 auf der linken Seite (Abb. 3.1.2). Das Test-Item (natürliches Polysaccharid Carboxymethylcellulose) wurde auf der einen und als Referenz-Item Radiesse® auf der anderen Seite injiziert. Bei Radiesse® handelt es sich um Calcium Hydroxylapatit Partikel, welche in einem Carboxymethylcellulose Gel suspendiert sind. Das bereits für die kosmetische Behandlung zugelassene Referenz-Item (Radiesse®) diente als Kontrolle für die Beurteilung des Test-Items.

Pro Seite wurden abwechselnd 3 Bolus-Injektionen (1x5 ml, Abb. 3.1.3) und 3 Injektionen in Sternform (5x1 ml pro Strahl, Abb. 3.1.3) durchgeführt (Abb. 3.1.2). Beide Injektionsformen dienten der Beurteilung der Biokompatibilität. Zusätzlich wurde der Volumenverlauf anhand der Bolus-Injektionen nachvollzogen.

Direkt nach den Injektionen wurden Fotos, eine Ultraschalluntersuchung und ein MRT gemacht. Anschliessend wurden die Injektionsstellen monatlich fotografiert, makroskopisch beurteilt, palpiert und mittels Ultraschall dargestellt. Weitere MRT-Untersuchungen folgten nach 2, 4 und 6 Monaten. Anhand der makroskopischen Beurteilung, der Palpation und der Ultraschall- sowie MRT-Untersuchungen wurden lokale Reaktionen und Volumenveränderungen untersucht. 2 und 4 Monate nach der Injektion wurden von jedem Tier 4 Biopsien und nach der Euthanasie nach 6 Monaten sämtliche Injektionsbereiche für die histologische Untersuchung entnommen. Mit deren Hilfe wurde die Biokompatibilität und die Degradierung des Materials beurteilt (Abb. 3.1.1).

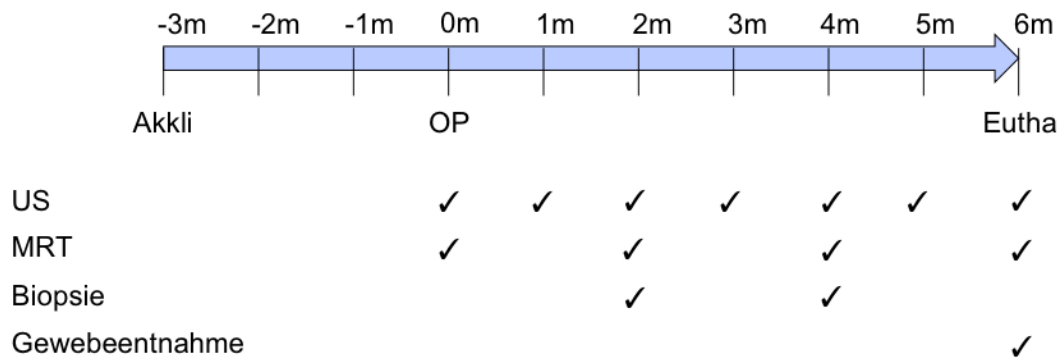


Abb. 3.1.1: Zeitlicher Ablauf der Studie, m: Monat(e)

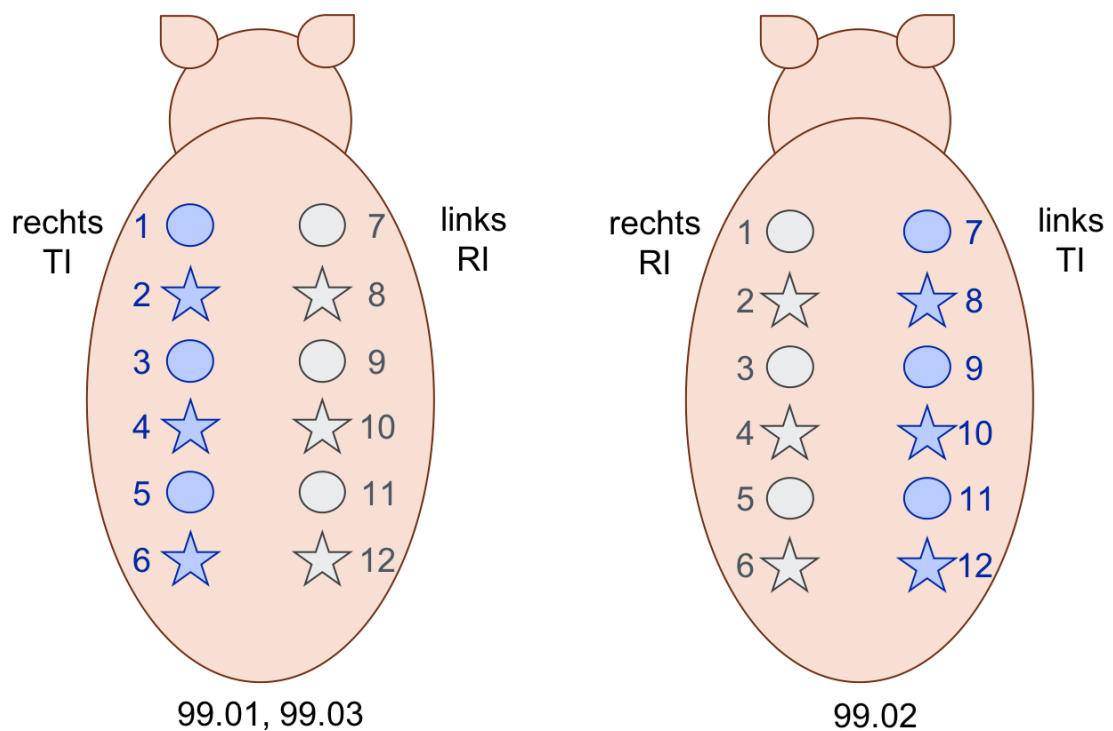


Abb. 3.1.2: Injektionsschemata



Abb. 3.1.3: Schema Bolus- & Stern-Injektion

3.2 Vorbereitung

Die 3 Schweine wurden beim Züchter (Ellegaard Göttingen Minipigs A/S, DK-4261 Dalmose) mit Ohrmarken gekennzeichnet (99.01: DK010496/331895, 99.02: DK010496/331941, 99.03: DK010496/332198) und am 07.06.2018 zum Tierspital in Zürich gebracht. Bei ihrer Ankunft waren die Schweine 16 (99.03) bzw. 17 (99.01, 99.02) Monate alt und wogen 34.2 kg (99.01), 34.7 kg (99.02) und 34.5 kg (99.03). Dort wurden die Tiere entsprechend der Vorgaben des (schweizerischen) Tierschutzgesetzes zunächst im Stall TSB-00-13 und später im Stall TSA 00.25 gehalten. Für die ersten 3 Tage waren die Schweine 99.01 und 99.02 zusammen und das Tier 99.03 getrennt, aber mit Sichtkontakt zu den anderen, in kleineren Boxen untergebracht. Anschliessend wurden alle Tiere in einer grossen Box zusammengehalten und lediglich direkt nach den Anästhesien für kurze Zeit getrennt, bis sie klinisch stabil waren. Für die Studie wurden ausschliesslich gesunde Tiere verwendet. Die Tiere bekamen zweimal täglich ein spezielles Futter für Minipigs entsprechend den Angaben des Züchters (500 g/Tag und Tier, SMP Mini-Pig). In der Regel wurden sie getrennt gefüttert, damit jedes Tier die gleiche Ration erhielt und keine Kämpfe um das Futter entstehen konnten. Zusätzlich stand den Tieren immer Heu und Wasser aus Nippeltränken ad libitum zur Verfügung. Zur Beschäftigung der Tiere wurden Bälle in die Box gelegt und Heu sowie Stroh nur an eine Stelle platziert, sodass es von den Tieren selber verteilt werden musste. Zudem durften sie sich unter Aufsicht im Raum vor der Box frei bewegen. Nach circa einer Woche wurde mit dem Klicker-Training der Tiere begonnen, damit sie sich an den Umgang mit den Menschen gewöhnten und somit das Handling erleichtert sowie Stress minimiert wurde. Ausserdem diente das Training als Beschäftigung. Jedes Schwein wurde dabei einzeln aus der Box geholt und mit der normalen Futtermenge als Belohnung trainiert. In der Regel fand dieses Training morgens und abends im Rahmen der normalen Fütterung statt. Zunächst wurden die Tiere an den Klicker gewöhnt, sodass dieser mit Futter in Verbindung gebracht wurde. Anschliessend wurde der Klicker verwendet, um erwünschte Handlungen zu trainieren. Da nach der Operation täglich die Bereiche der Injektionen beurteilt werden sollten, wurden die Schweine darauf trainiert, mit den Vorderbeinen auf einen kleinen Hocker zu steigen und dort zu verweilen. Zur Beschäftigung und Erleichterung des allgemeinen Handlings wurde trainiert, dass die Schweine einem kleinen roten Schaumstoffball an einem Stab folgen und diesen mit dem Rüssel berühren.

Die Tiere wurden einmalig im Verlauf der Studie mit Flubendazol (Flubenol® 5% ad us. vet., 0.2 g/10 kg KGW, 1x tägl. für 5 Tage, p.o., Provet AG, Lyssach) entwurmt.

3.3 Operation

3.3.1 Operationsvorbereitung

Die Schweine wurden 1-3 Tage vor der Injektion des Materials gewogen. Circa 12 Stunden vor der Operation wurde den Schweinen das Futter entzogen. Zu Wasser hatten sie weiterhin freien Zugang.

Vor der Anästhesie wurden die Tiere sediert mit Azaperon (Stresnil®, 2 mg/kg KGW, i.m., Elanco Tiergesundheit AG, Basel, Schweiz), Ketamin (Ketanarkon 100 ad us. vet., 20.0 mg/kg KGW, i.m., Streuli Pharma AG, Uznach, Schweiz) und Atropin (Atropinsulfat Amino, 0.01 mg/kg KGW, i.m., Amino AG, Gebensdorf, Schweiz). Im Anschluss wurden die sedierten Tiere allgemein klinisch untersucht. Ein Ohr wurde geschoren, mit Chlorhexidine (Hibiscrub®, Chlorhexidine Gluconate 4%, Regent Medical (Overseas) Limited., Lancashire, Vereinigtes Königreich) gereinigt, mit Alkohol (Alkohol isopropylicus 70%, Hänseler Swiss Pharma, Herisau, Schweiz) desinfiziert und ein Venenkatheter (SURFLO® i.v. Catheter, 20Gx11/4" und 22Gx1", Terumo (Philippines) Corporation, Binan, Laguna, Philippinen) in eine Ohrvene gelegt.

3.3.2 Anästhesie

Die Anästhesie wurde mit Propofol (Propofol 1% MCT Fresenius, nach Effekt (ca. 1-4 mg/kg), i.v., Fresenius Kabi (Schweiz) AG, Oberdorf NW, Schweiz) eingeleitet und die Tiere in Brustbauchlage positioniert. Anschliessend wurde der Larynx mit 2-3 Sprühstössen Xylocain-Spray (Xylocain Spray 10%, AstraZeneca, Zug, Schweiz) desensibilisiert und mit Hilfe eines Laryngoskopes endotracheal intubiert. Der korrekte Sitz wurde durch das expiratorische CO₂ Monitoring bestätigt. Die weitere Aufrechterhaltung der Anästhesie wurde mittels Inhalation eines Isofluran-Sauerstoffgemisches (Attane™ Isoflurane ad us. vet., 0.6-3 Vol%, Provet AG, Lyssach, Schweiz) und während der Injektionen ausser bei Tier 99.01 zusätzlich mit Propofol (Propofol 1% MCT Fresenius, 0.1 ml/kg/h, i.v., Fresenius Kabi (Schweiz) AG, Oberdorf NW, Schweiz) mit kontinuierlicher Infusionsrate gewährleistet. Während der Operation wurde Ringer-Acetat-Lösung (Ringer-Acetat «Bichsel», 4.6-9.8 ml/kg/h, i.v., Laboratorium Dr. G. Bichsel AG, 3800 Unterseen, Schweiz) als Dauertropfinfusion verabreicht und Augensalbe mit Retinol palmitat (Vitamin A <Blache>, Retinol palmitat

(15000 I.E.), Bausch & Lomb Swiss AG, Zug, Schweiz) in beide Augen auf die Kornea gegeben. Die Tiere wurden während der Anästhesie mittels EKG, Pulsoxymetrie, nicht-invasiver Blutdruckmessung, ösophagealer Temperaturmessung und in- und expiratorischer Messung der Konzentrationen von O₂, CO₂ und Isofluran überwacht. Für den Transport zum MRT und zurück sowie innerhalb des MRTs wurden Bolusinjektionen Propofol (Propofol 1% MCT Fresenius, nach Effekt (ca. 1-4 mg/kg), i.v., Fresenius Kabi (Schweiz) AG, Oberdorf NW, Schweiz) gegeben, um die Anästhesie aufrecht zu erhalten.

3.3.3 Perioperative Medikation

Zur Analgesie während und nach der Operation wurden einmalig Buprenorphin (Temgesic®, 0.02 mg/kg KGW, i.m., Indivior Schweiz AG, Baar, Schweiz), einmalig Carprofen (Rimadyl® ad us. vet., 4 mg/kg KGW, i.v., Zoetis Schweiz GmbH, Delémont, Schweiz) und für weitere 3 Tage einmal täglich Carprofen (Rimadyl®, 4 mg/kg KGW, p.o., Zoetis Schweiz GmbH, Zürich, Schweiz) gegeben. Zusätzlich wurde zum Schutz der Magenschleimhaut einmalig Esomeprazol (Nexium®, 40 mg/Tier, i.v., AstraZeneca GmbH, Wedel, Deutschland) in Anästhesie und für 4 weitere Tage einmal täglich Omeprazol (GastroGard® 37%, 4 mg/kg KGW, p.o., Biokema SA, Crissier-Lausanne, Schweiz) gegeben. Die Tiere haben keine prophylaktische Antibiose erhalten.

3.3.4 Spezifikation Test-Item und Referenz-Item

Bei dem verwendeten Test-Item handelt es sich um ein Produkt mit dem natürlichen Polysaccharid Carboxymethylcellulose. Es kann minimal invasiv angewendet werden und im Gegensatz zu Adipozyten soll die Injektion grösserer Volumina möglich sein. Nach der Injektion entsteht ein Volumen, das vorhersehbar ist und die gleichen mechanischen Eigenschaften wie Weichteilgewebe hat. Das injizierte Material dient als Gerüst, welches das Einwachsen von Zellen und Blutgefässen fördert. Das entstehende Gewebe ist Teil des Körpers und wird somit nicht resorbiert. Für die Verbesserung der Biokompatibilität kann das Material mit autologen Adipozyten gemischt werden. Die spezifischen Parameter (wie z.B. der Quervernetzungsgrad oder die Polymerkonzentration) können individuell an die Bedürfnisse des Patienten angepasst werden.

Als Referenz-Item wurde in dieser Studie das kommerziell erhältliche Radiesse® (Merz Aesthetics™ Inc., Franksville, USA) genutzt. Es besteht aus synthetischem Calcium Hydroxylapatit, welches in einem Gel aus Wasser, Glycerin und Carboxymethylcellulose

suspendiert ist. Calcium Hydroxylapatit kommt als natürlicher Bestandteil in Zähnen und Knochen vor. Nach der Injektion wird das Gel durch neues Gewebe ersetzt, während das Calcium Hydroxylapatit am Ort der Injektion bleibt¹⁴⁰.

3.3.5 Chirurgischer Eingriff

3.3.5.1 Grundprinzip

Die subkutane Injektion im Bereich des Bauches nahe der Milchdrüse wurde als Testmethode gewählt, da sie vergleichbar mit der geplanten klinischen Anwendung des Materials beim Menschen ist. Auch beim Menschen soll das Material mit Hilfe von Spritzen subkutan im Bereich der Brust injiziert werden.

Die Biopsien wurden genommen, um die Biokompatibilität und den Abbau des Materials zu verschiedenen Zeitpunkten zu beurteilen.

3.3.5.2 Injektionen

Die Schweine wurden für die Injektionen in Rückenlage positioniert. Der Bereich der Milchleisten wurde geschoren, mit Chlorhexidine (Hibiscrub®, Chlorhexidine Gluconate 4%, Regent Medical (Overseas) Limited., Lancashire, Vereinigtes Königreich) gereinigt und mehrfach mit Alkohol (Alkohol isopropylicus 70%, Hänseler Swiss Pharma, Herisau, Schweiz) desinfiziert. Das Operationsfeld wurde steril abgedeckt.

Bei jedem Schwein wurden 12 Injektionen subkutan im Bereich der Milchleiste jeweils zwischen 2 Zitzen und ca. 1-2 cm medial davon vorgenommen, davon auf einer Seite 6 mit Test- und auf der anderen Seite 6 mit Referenz-Item (Abb. 3.1.2). Die Materialien wurden abwechselnd als Bolus-Injektion mit 5 ml injiziertem Volumen und als sternenförmige Injektion mit 5 Linien aus je 1 ml Material injiziert (Abb. 3.1.3). Dafür wurde eine Stichinzision vorgenommen und eine stumpfe Kanüle mit seitlicher Öffnung in der Nähe der Spitze eingeführt. Bei den Bolus-Injektionen wurde das gesamte Material an eine Stelle injiziert. Für die sternförmigen Injektionen wurde die stumpfe Kanüle entlang einer Schablone bewegt und das Material retrograd appliziert. Bei sichtbarem Austritt von Test- oder Referenz-Item wurde die Inzisionsstelle mit einem Einzelheft mit einem 2/0 VICRYL™-Faden (Johnson & Johnson International, Diegem, Belgien) verschlossen. Nach Abschluss aller Injektionen wurden Fotos (Kamera Nikon, Modell D5000) gemacht und jedes Schwein erhielt einen Mikrochip (T-IS - Bio Glass Microchip, Datamars SA, Lamone, Schweiz; 99.01: 756098100810305, 99.02: 756098100809519, 99.03: 756098100811700).

3.3.6 Postoperative Bildgebung

Im Anschluss an die Injektionen wurden eine Ultraschalluntersuchung (siehe 3.5.1 Ultraschall) und ein MRT (siehe 3.5.2 MRT) in Anästhesie durchgeführt.

3.3.7 Postoperatives Management

Nach der Anästhesie wurden die Schweine in Brustbauchlage positioniert und bei Einsetzen des Schluckreflexes extubiert. Die Tiere wurden zurück in den Stall gebracht und der Venenkatheter entfernt. Bis die Schweine klinisch stabil waren, wurden sie dauerhaft überwacht und unter einer Wärmelampe getrennt voneinander untergebracht. Erst wenn die Tiere klinisch wieder stabil waren, wurden sie zu den anderen in die Box gebracht.

3.4 In-Life Phase

Während der In-Life Phase wurde monatlich eine Ultraschalluntersuchung sowie ab Monat 2 eine makroskopische Beurteilung der Injektionsstellen in Anästhesie gemacht. Jeden 2. Monat (nach 2, 4 und 6 Monaten) wurden in Verbindung damit eine MRT-Untersuchung und Biopsieentnahmen durchgeführt. Nach 2 Monaten wurden Biopsien an den Injektionen 1, 2, 7 und 8, nach 4 Monaten an den Injektionen 3, 4, 9 und 10 genommen. Nach 6 Monaten wurden dann alle Injektionsbereiche als Ganzes entnommen (Abb. 3.1.1).

Zur Kontrolle des Gesundheitsstatus wurde den Tieren 3 Monate nach den Injektionen in Anästhesie Blut abgenommen. Zur Bewertung der Ergebnisse wurden anstelle der Referenzwerte des Labors die von Ellegaard verwendet.

Die Schweine wurden jeweils 1-6 Tage vor der Sonografie gewogen.

3.4.1 Tägliche Überwachung der Tiere

Über die gesamte Zeit der Studie wurden die Schweine zweimal täglich hinsichtlich Auffälligkeiten untersucht. Dabei wurde unter anderem auf das Allgemeinbefinden, die Futteraufnahme, die Kotbeschaffenheit, Verletzungen, die Atmung, das Sozialverhalten und die Körperhaltung geachtet. Sämtliche Beobachtungen wurden dokumentiert.

3.4.2 Tägliche Beurteilung der Injektionsstellen

Im Anschluss an die Operation wurden die Injektionen in der Regel täglich visuell und mit leichter Berührung kontrolliert. Um die Injektionen besser beurteilen zu können, wurden die Tiere wie unter Punkt 3.2 Vorbereitung beschrieben trainiert. Mit Hilfe eines

Spiegels und durch Palpation wurden die Injektionen nach folgenden Kriterien untersucht: Rötung, Schwellung, Temperatur, Sekret im Bereich der Injektion und der Zustand der Naht, falls vorhanden. Die Ergebnisse wurden jeweils in dem entsprechenden Scoring-Sheet dokumentiert (Anhang Tab. 1).

Für die tägliche Beurteilung der Injektionsstellen wurde das folgende Score-System verwendet:

- Farbe des Injektionsbereiches: 1: physiologisch, 2: rötlich, 3: rot, 4: dunkelrot
- Lokale Temperatur: 1: physiologisch, 2: leicht wärmer, 3: deutlich wärmer, 4: heiss
- Sekret: 1: kein Sekret, 2: leicht nässend, 3: seröses/serosanguinöses Sekret, 4: eitriges Sekret
- Naht: 1: keine Befunde, 2: leichte Dehiszenz, aber in Granulation, 3: deutlich auseinanderklaffend, 4: vollständige Dehiszenz. (Score 1, wenn keine Nähte vorhanden sind)
- Lokale Schwellung: 1: keine Schwellung, 2: leichte Schwellung, 3: deutliche Schwellung, 4: starke Schwellung

3.4.3 Monatliche makroskopische Beurteilung und Dokumentation

Die Injektionen wurden ab Monat 2 nach der Injektion jeweils vor der monatlichen Ultraschalluntersuchung makroskopisch beurteilt. Visuell und mit tiefer Palpation wurde die Konsistenz, Grösse und sonstige Abnormitäten (wie Rötungen, Krusten oder Abszesse) untersucht. Im Anschluss wurden die einzelnen Injektionen fotografiert (Kamera Nikon, Modell D5000) (Anhang Tab. 2).

3.4.4 Monatliche Ultraschalluntersuchung

3.4.4.1 Vorbereitung

Am Abend vor der Anästhesie wurde den Tieren Omeprazol (GastroGard® 37%, 4 mg/kg KGW, p.o., Biokema SA, Crissier-Lausanne, Schweiz) verabreicht. Das weitere Vorgehen entsprach dem vor den Injektionen (siehe 3.3.1 Operationsvorbereitung).

3.4.4.2 Anästhesie

Die Anästhesie wurde, wie unter Punkt 3.3.2 Anästhesie beschrieben, durchgeführt. Lediglich das Propofol (Propofol 1% MCT Fresenius, nach Effekt (ca. 1-4 mg/kg), i.v.,

Fresenius Kabi (Schweiz) AG, Oberdorf NW, Schweiz) wurde nicht mit einer kontinuierlichen Infusionsrate verabreicht.

3.4.4.3 Prozedur

Neben der Ultraschalluntersuchung direkt nach der Injektion wurden weitere Untersuchungen nach 1, 2, 3, 4, 5 und 6 Monaten mit dem Gerät Ultrasound diagnostic Scanner (Hitachi, Tokyo, Modell EUG-7500 AE) durchgeführt. Nach 2, 4 und 6 Monaten wurden diese gemeinsam mit einer MRT-Untersuchung und einer Biopsie- bzw. der Gewebeentnahme gemacht. Die Untersuchung wurde, wie bei Punkt 3.5.1 Ultraschall beschrieben, durchgeführt. Nach 6 Monaten wurde die Sonographie im Anschluss an die Euthanasie durchgeführt.

3.4.4.4 Perioperative Medikation

Den Tieren wurde für weitere 1-2 Tage einmal täglich Omeprazol (GastroGard® 37%, 4 mg/kg KGW, p.o., Biokema SA, Crissier-Lausanne, Schweiz) gegeben. Die Schweine erhielten keine weiteren Medikamente.

3.4.4.5 Postoperatives Management

Das postoperative Management entsprach dem unter Punkt 3.3.7 postoperatives Management beschriebenen Vorgehen.

3.4.5 MRT und Biopsie (mit Sonografie)

3.4.5.1 Vorbereitung

Das aktuelle Körpergewicht der Tiere wurde 1-6 Tage vor der Anästhesie ermittelt. Der restliche Ablauf entsprach dem in Punkt 3.3.1 Operationsvorbereitung für die Injektionen genannten Vorgehen.

3.4.5.2 Anästhesie

Die Anästhesie wurde, wie bei Punkt 3.3.2 Anästhesie erklärt, durchgeführt. Im MRT, bei der 1. Biopsie und vor der Euthanasie wurde Propofol (Propofol 1% MCT Fresenius, nach Effekt (ca. 1-4 mg/kg), i.v., Fresenius Kabi (Schweiz) AG, Oberdorf NW, Schweiz) allerdings nicht mit einer kontinuierlichen Infusionsrate verabreicht.

3.4.5.3 *Prozedur*

3.4.5.3.1 MRT

Zusätzlich zu dem MRT im Anschluss an die Injektionen wurden nach 2, 4 und 6 Monaten weitere MRT-Untersuchungen wie unter Punkt 3.5.2 MRT vorgenommen.

3.4.5.3.2 Biopsie

Biopsien wurden nach 2 Monaten an den Injektionsstellen 1, 2, 7 und 8 und nach 4 Monaten an den Injektionsstellen 3, 4, 9 und 10 entnommen. Somit war jeweils eine Bolus- und eine Stern-Injektion für TI und RI vorhanden. Dafür wurden 8 mm Biopsiestanzen (Biopsy Punch, SmithKline Beecham Ltd., Slough, Berks, UK) verwendet und die Wunde anschliessend mit einer ein- oder zweischichtigen Naht verschlossen (subkutan 4/0 VICRYL™-Faden (Johnson & Johnson International, Diegem, Belgien), Haut 2/0 VICRYL™-Faden (Johnson & Johnson International, Diegem, Belgien)). Im Anschluss an die Entnahme wurden die einzelnen Biopsien fotografiert (Kamera Nikon, Modell D5000).

3.4.5.3.3 Histologischer Prozess

Nach der Entnahme wurden die Biopsien über Nacht (mindestens 24 Stunden) in Einbettkassetten in 4%igem gepufferten Formalin fixiert. Dafür wurden sie auf den Schüttler (Modell HS501 D, IKA®-Werke GmbH & CO. KG, Staufen, Deutschland) gestellt. Anschliessend wurden die Proben im Histoprocessor (Leica Histoprocessor ASP200 S, Leica Microsystems Nussloch, Nussloch, Deutschland) mittels aufsteigender Alkoholreihe dehydriert. Dieser Prozess ist notwendig, um das Einbetten in Paraffin mit Hilfe der Leica Ausgiess-Station (Modell: EG 1150H, Leica Microsystems Nussloch, Nussloch, Deutschland) zu ermöglichen. Dafür wurden die Proben mit flüssigem Paraffin in Einbettsschalen gegeben und im Anschluss zum Auskühlen auf eine Kühlplatte gelegt. Aus den hergestellten Paraffinblöcken wurden von dem Institut der Veterinärpathologie 4 µm dicke Schnitte mit dem Microm Rotationsmikrotom HM 355 S (Hersteller: Microm Laborgeräte GmbH, Vertretung: Histocom AG, Zug, Schweiz) angefertigt und mit der Hämatoxylin und Eosin-Färbung (HE-Färbung) gefärbt. Die HE-Färbung dient als Übersichts- und Differenzierungsfärbung. Ein repräsentativer Schnitt wurde zusätzlich mit der von Kossa Färbung zum Nachweis von Verkalkungen und der Brown-Brenn Färbung zur Darstellung von Bakterien gefärbt.

3.4.5.4 Perioperative Medikation

Die perioperative Medikation wurde, wie im Punkt 3.3.3 Perioperative Medikation beschrieben, durchgeführt. Es wurde lediglich kein Buprenorphin gegeben.

3.4.5.5 Postoperatives Management

Das Vorgehen nach der Anästhesie war bis auf die Implantation eines Mikrochips wie unter Punkt 3.3.7 Postoperatives Management beschrieben.

3.5 Bildgebung

3.5.1 Ultraschall

Zusätzlich zu dem Ultraschall direkt nach den Injektionen wurden weitere Untersuchungen 1, 2, 3, 4, 5 und 6 Monate später durchgeführt. Direkt nach den Injektionen wurde dafür das Gerät Aloka Prosound F75 (Hitachi, Ltd., Tokyo, Japan) und für alle folgenden Untersuchungen das Gerät Ultrasound diagnostic Scanner (Modell EUG-7500 AE, Hitachi, Ltd., Tokyo, Japan) verwendet. Bei allen Sonographien wurde ein linearer Schallkopf genutzt. Die Schweine waren in Rückenlage positioniert. Bei dem Tier 99.01 wurden nur die Injektionen 1, 2 und 7 (2 nur lateromedial) und bei den beiden anderen Schweinen alle Injektionsstellen in 2 Richtungen (kraniokaudal und lateromedial) untersucht. Von beiden Ebenen wurden Bilder gespeichert, auf denen der Bereich mit der maximal darstellbaren Ausdehnung des Materials abgebildet ist.

3.5.2 MRT

Bei den MRT-Untersuchungen direkt nach der Injektion sowie 2, 4 und 6 Monate danach wurden die Sequenzen T1W, PDW, sT2W und TSE generiert. Dafür wurde das Gerät Ingenia 3T von Philips verwendet. Die Tiere wurden in Brustbauchlage gelagert und mit dem Kopf nach vorne ausgerichtet. Die Vordergliedmassen wurden neben dem Körper gebeugt positioniert und die Hintergliedmassen nach hinten gestreckt. Die Spule wurde auf dem Rücken des Schweines platziert und fixiert. Mittels MRT kann man unterschiedliche Gewebeeigenschaften über verschiedene Messarten darstellen. Die einzelnen Sequenzen wurden ausgewählt, um den bestmöglichen Kontrast zwischen dem injizierten Material und dem umliegenden Gewebe, einschliesslich Fettgewebe, zu erhalten. Da vor Beginn der Studie unklar war, wie sich das Material darstellt und wie es sich im Verlauf der Zeit entwickelt, wurde mit den verschiedenen Sequenzen ein möglichst grosses Spektrum abgedeckt. Bei der T1-Wichtung kommt hauptsächlich die

longitudinale und bei der T2-Wichtung vorwiegend die transversale Relaxation der Kerne zur Darstellung. Bei der PD-Wichtung kommt die unterschiedliche Dichte der Kerne in den verschiedenen Geweben zur Darstellung. Die T1-Wichtung wird vorwiegend zur anatomischen Darstellung verwendet und auch nach Kontrastmittelgabe (Gadolinium). Die T2-Wichtung ist eine flüssigkeitssensitive Messtechnik, bei der Flüssigkeit hyperintens (hell) erscheint. Da bei vielen pathologischen Prozessen vermehrt Flüssigkeit (z.B. entzündlich oder ödematös) vorkommt, wird die T2-Wichtung meist im Zusammenhang mit Fettunterdrückung als Suchsequenz für pathologische Prozesse verwendet¹⁴¹. Bei der PD-Wichtung hängt die Intensität von der Protonendichte ab. Dabei stellen sich Gewebe mit einer hohen Protonendichte hyperintens (hell) dar¹⁴². Die TSE-Sequenz ist eine schnelle Sequenz, die sensitiv für pathologische Veränderungen des Gewebes ist und sich gut für Messungen eignet¹⁴³.

3.6 Euthanasie und postmortale Untersuchungen

3.6.1 Euthanasie

Nach der MRT-Untersuchung wurden die Tiere jeweils mit 15 ml Pentobarbital (Esconarkon ad us. vet., 100-150 mg/kg KGW, i.v., Streuli Pharma SA, 8730 Uznach, Schweiz) euthanasiert.

3.6.2 Postmortale Untersuchungen

Im Anschluss an die Euthanasie wurden Fotos (Kamera Nikon, Modell D5000) von den einzelnen Injektionen gemacht und eine makroskopische Beurteilung durchgeführt.

3.6.3 Gewebeentnahme und histologische Probenaufbereitung

Nach den Untersuchungen wurden alle Injektionsstellen vollständig entnommen und fotografiert (Kamera Nikon, Modell D5000) und makroskopisch beurteilt. Danach wurde die Probe fixiert und die gewünschte Region aus den Gewebeproben zugeschnitten. Anschliessend wurden diese Proben in Paraffinkassetten für die Einbettung gelegt, und wie unter Punkt 3.4.5.3.3 Histologischer Prozess beschrieben, bearbeitet.

3.7 Auswertung

3.7.1 Tägliche Beurteilung der Injektionsstellen

Für die bessere Darstellung wurden Tabellen erstellt, die ausschliesslich Tage mit einem abnormalen Score (>1) in mindestens einem Parameter enthalten, und Diagramme, die

den Verlauf jedes einzelnen Parameters nach Tieren aufgeteilt für alle Injektionen zeigen. Für jedes Tier wurde ausserdem eine Tabelle erstellt, in der die Anzahl der Tage mit einem unphysiologischen Befund unterteilt nach Injektionen und Kriterium dargestellt wurden. Zudem wurden die durchschnittlichen Tage mit einem veränderten Score für jeden Parameter und pro Injektion berechnet. Es gibt jeweils einen Wert pro Score mit und einen ohne Veränderungen direkt im Anschluss an die Injektion oder Biopsie. Diese Berechnungen wurden getrennt für Test- und für Referenz-Item durchgeführt. (Rechnung: Anzahl gesamt veränderte Tage für Score X/18; 18 = Anzahl Injektionen TI/RI)

3.7.2 Monatliche makroskopische Beurteilung und Dokumentation

Anhand der ermittelten Masse wurde je Tier ein Diagramm für die zeitliche Entwicklung palperten Grösse erstellt.

3.7.3 Monatliche Ultraschalluntersuchung

Wenn auf den gespeicherten Ultraschallbildern injiziertes Material zu erkennen war, wurde der Durchmesser des sichtbaren Test- oder Referenz-Items in beiden Ebenen gemessen. Bei der kraniokaudalen Schallrichtung wurde ein lateromedialer und ein ventrodorsaler Wert und bei der lateromedialen Schallrichtung ein kraniokaudaler und ventrodorsaler Wert ermittelt. Somit gab es für jede Injektion 3 verschiedene Durchmesser (lateromedial, kraniokaudal und ventrodorsal).

Für die Berechnung des Volumens wurden lediglich die Bolus-Injektionen einbezogen. Dafür wurde davon ausgegangen, dass die Verteilung des Materials der Bolus-Injektionen regelmässig in der Form eines tri-axialen Ellipsoids (Abb. 3.7.1), alle Radien [a, b, c] haben unterschiedliche Werte) war. Mit der Formel für die Volumenberechnungen von tri-axialen Ellipsoiden (Formel: $V = \frac{4}{3}\pi abc$; V= Volumen, a, b, c: Radien des Ellipsoids) wurde das Volumen der Boli in cm³ berechnet. Da angenommen werden kann, dass die Messwerte fälschlicherweise zu klein, aber nicht zu gross sein können, wurden die maximalen Werte verwendet.

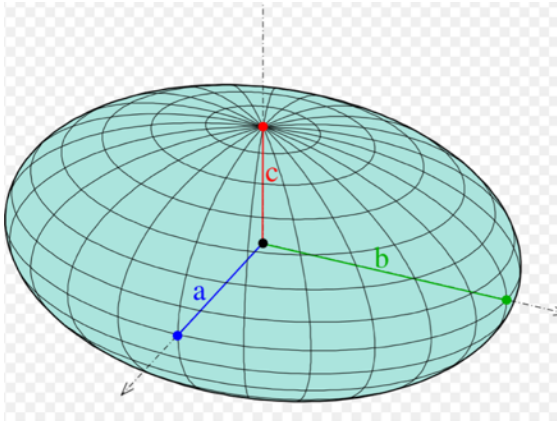


Abb. 3.7.1: Volumenberechnung eines Tri-axialen Ellipsoids (Quelle: Wikipedia <https://en.wikipedia.org/wiki/Ellipsoid>, 12. Mai 2019)

3.7.4 MRT

Aus den MRT-Dateien wurden einzelne Bilder jeder Injektion erstellt, auf denen die maximale Ausdehnung bzw. beste Darstellung des Materials sichtbar war. Die Veränderungen der Abbildung der einzelnen Injektionen im Laufe der Zeit wurden beschrieben. Wenn möglich wurde das Volumen aller Bolus-Injektionen mit dem «tumor tracking» Paket der Software Intellispace® (Philipps) berechnet. Dafür wurde der Umriss des injizierten Materials manuell in jeder Ebene markiert und das Volumen in cm^3 von der Software ermittelt. Anhand der Ergebnisse konnten die Volumenänderungen über die Zeit bestimmt werden.

3.7.5 Histologie

Für die semi-quantitative Auswertung der Histologie-Schnitte wurde ein Lichtmikroskop (LEICA Microsystems, LEICA DMR System) mit 12.5-400facher Vergrößerung verwendet. Von den einzelnen Schnitten wurden repräsentative digitale Bilder mit der Image Access IMS Software (Imagic Bildverarbeitung Ag, Glattbrugg) gespeichert (Kamera: LEICA DFC 320).

Die Reaktion des Gewebes (Biokompatibilität) auf die injizierten Materialien wurde semi-quantitativ gemäss des ISO Standardsystems (ISO 10993-Part 6 Annex E (Third edition 01.12.2016)) ausgewertet. Entsprechend der Anforderungen dieser Studie wurden die zu beurteilenden Kriterien angepasst. Für die Evaluation wurden folgende Kriterien angewendet: Entzündungsreaktion mit Infiltration von Entzündungszellen und Nekrose (Anhang Tab. 3), Gewebeumbau mit Neovaskularisation und Fibrose (Anhang Tab. 4) sowie Materialparameter und zusätzliche Beobachtungen (Anhang Tab. 5). Für jedes Kriterium wurde ein Score von 0 (physiologisch) bis 4 (stärkste Abweichung) festgelegt.

Die Parameter Entzündungsreaktion und Nekrose wurden mit dem Faktor 2 multipliziert, um gewichtete Werte zu erhalten. Zum Schluss wurden alle Werte addiert und anschliessend der Durchschnittswert der Gewebereaktion (Biokompatibilität) für Test- und Referenz-Item berechnet. Um den Grad der Reaktion zu bestimmen, wurde der Durchschnittswert des Referenz-Items von dem des Test-Items abgezogen und die Reaktion von minimal bzw. nicht vorhanden bis schwer eingestuft (Tab. 3.7.1). Die Materialparameter und sonstige Beobachtungen wurden nicht in die Berechnung der Gewebereaktion eingerechnet.

Tab. 3.7.1: Einteilung des Reaktionsgrades

- minimale oder keine Reaktion	(0.0 – 2.5)
- leichte Reaktion	(2.6 – 8.1)
- moderate Reaktion	(8.2 - 13.8)
- starke Reaktion	>13.8

3.8 Zusammenfassung der Komplikationen

Zur besseren Übersicht über die aufgetretenen Komplikationen wurde eine Tabelle erstellt, in der angegeben wurde, an welchen Injektionsstellen Abszesse, Granulome oder Kapseln gesehen werden konnten. Zusätzlich wurde der zeitliche Verlauf der Komplikationen für jede Injektion in einem Diagramm dargestellt.

3.9 Statistische Analyse

Aufgrund der geringen Probenzahl wurde keine statistische Auswertung durchgeführt.

4 Resultate

4.1 Vorbereitung

Die 3 Schweine wurden nach der Ankunft klinisch untersucht. Aufgrund ihrer Unsicherheit und Ängstlichkeit konnten nicht alle vorgesehenen Parameter beurteilt werden. Alle 3 Schweine waren gesund. Sie wurden in einer Gruppe gehalten und ausschliesslich nach den Anästhesien und für das Training voneinander getrennt. Es gab lediglich kleine Auseinandersetzungen zwischen den Tieren in der Zeit nach der Anästhesie, die keinerlei Folgen für den Verlauf der Studie hatten. Die Fütterung wurde in der Regel mit dem Training der Schweine verbunden.

Durch das Klickertraining sind die Schweine schnell zutraulich geworden und haben in kurzer Zeit gelernt auf einen kleinen Hocker zu steigen, sodass mit Hilfe eines Spiegels die Injektionen gut beurteilt werden konnten. In dieser Position konnte der Bauch mit einem Spiegel problemlos angesehen und auch berührt werden. Zudem sind sie einem roten Schaumstoffball an einem Stab mit ihrer Nase gefolgt. Damit konnten die Schweine beispielsweise auf die Waage geführt werden.

4.2 Operation

4.2.1 Operationsvorbereitung

Die Sedierungen sind ohne Komplikationen verlaufen. Die sedierten Schweine wurden klinisch untersucht und waren gesund.

4.2.2 Anästhesie

Die Anästhesien verliefen ohne Probleme.

4.2.3 Perioperative Medikation

Die Schweine haben zu keinem Zeitpunkt Anzeichen von Schmerzen im Zusammenhang mit den Injektionen gezeigt. Es konnten keine Probleme mit der Futteraufnahme beobachtet werden.

4.2.4 Chirurgischer Eingriff

Alle Injektionen sind wie geplant verlaufen. Bei einigen RI-Injektionen ist injiziertes Material im Bereich der Stichinzision ausgetreten. Diese wurden dann mit einem

Einzelheft mit einem 2/0 VICRYL™ -Faden (Johnson & Johnson International, Diegem, Belgien) verschlossen. Bei den TI-Injektionen ist kein Material ausgetreten.

4.2.5 Postoperative Bildgebung

4.2.5.1 Ultraschall

Die Ergebnisse der Ultraschalluntersuchung nach den Injektionen sind unter Punkt 4.4.1 Ultraschall zusammen mit den anderen Zeitpunkten beschrieben.

4.2.5.2 MRT

Die Ergebnisse der MRTs sind bei Punkt 4.4.2 MRT für alle Zeitpunkte zu finden.

4.2.6 Postoperatives Management

Die postoperativen Phasen sind komplikationslos verlaufen. Das Allgemeinbefinden und die Futteraufnahme waren am Abend wieder normal.

4.3 In-Life Phase

Die Schweine wurden 1-6 Tage vor den Anästhesien gewogen. Es konnten keine Veränderungen des Körpergewichtes durch das Test-Item beobachtet werden. Während der ersten 5 bzw. 6 Monate haben alle 3 Tiere deutlich zugenommen (99.01: 10 kg und 99.02: 13.5 kg in 5 Monaten, 99.03: 9.9 kg in 6 Monaten). Daraufhin wurde die Futtermenge von 500 g auf 400 g pro Tier und Tag reduziert, um weitere Gewichtszunahmen zu minimieren. Nach der Futterreduktion war die Zunahme des Körpergewichtes geringer als vorher (99.01: 1.4 kg und 99.02: 3 kg in 2.5 Monaten). Das Schwein 99.03 hat zunächst 0.8 kg in 2 Monaten zu- und im letzten Monat 2 kg abgenommen. Insgesamt haben alle Tiere innerhalb der In-Life-Phase an Körpergewicht zugenommen (99.01: 11.4 kg, 99.02: 16.5 kg, 99.03: 8.7 kg) (Tab. 4.3.1, Abb. 4.3.1).

Am 18.12.18 wurde allen Tieren Blut entnommen. Für die Auswertung wurden die Referenzwerte für Ellegaard Göttingen Minipigs von Ellegaard anstatt der Werte des Labors verwendet. Bei der ersten Blutentnahme zeigte das Tier 99.01 keine Auffälligkeiten. Das Schwein 99.02 hatte eine ggr. Anämie sowie Leukopenie und das Schwein 99.03 eine ggr. Anämie. In Absprache mit den Tierärzten der Schweineklinik des Tierspitals Zürich wurde keine Behandlung eingeleitet, aber eine Nachkontrolle in der nächsten Anästhesie (15.-17.01.19) geplant. Bei dieser zeigte auch das Tier 99.01 eine ggr. Anämie. Die Werte des Schweins 99.03 waren nahezu unverändert und das Tier

99.02 hatte weiterhin eine ggr. Anämie und eine leicht verstärkte Leukopenie. Um eine Eisenmangelanämie auszuschliessen, wurde in Absprache mit den Tierärzten der Schweineklinik bei jeder Fütterung Wühlerde hinzugefügt. Aufgrund des guten Allgemeinzustandes der Tiere wurde keine weitere Behandlung vorgenommen.

Tab. 4.3.1: Körpergewichte (in kg)

	99.01	99.02	99.03
Akkli Phase 27.06.18	37.6	37.5	35.3
24.09.18	43	47	41
17.10.18	43.1	48.4	/
20./21.11.18	47.6	51	42.5
14.12.18	47.2	51.3	45.2
11.01.19	48	52	45.7
04.02.19	48.5	53.4	46
01.03.19	49	54	44

/: nicht gewogen

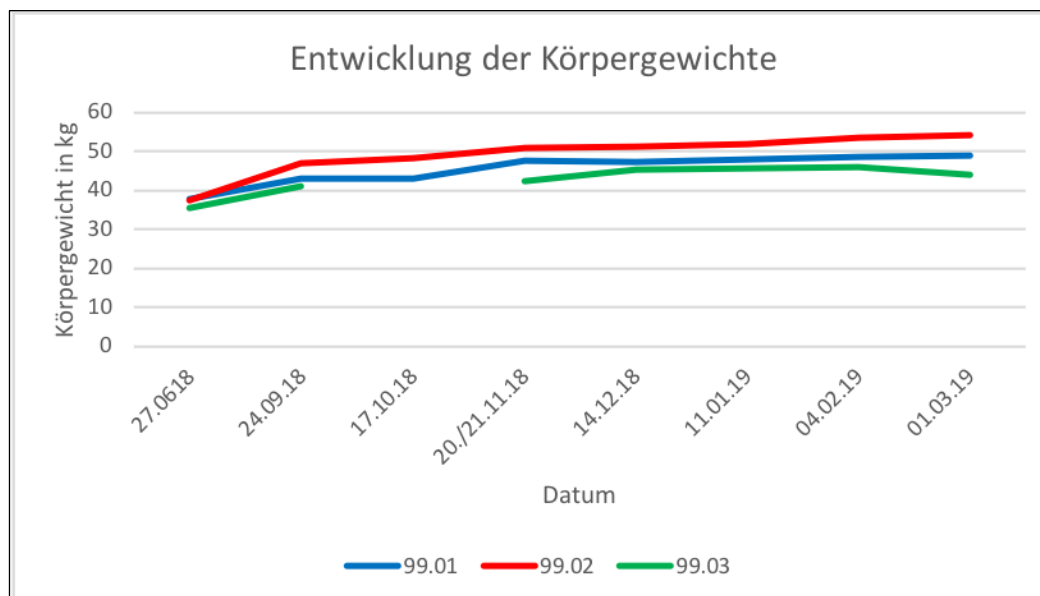


Abb. 4.3.1: Entwicklung der Körpergewichte im zeitlichen Verlauf

4.3.1 Tägliche Überwachung der Tiere

Es konnten keine Abweichungen der allgemeinen physiologischen Parameter bzw. systemische Veränderungen im Zusammenhang mit dem TI oder RI beobachtet werden. Auffälligkeiten wie Diarrhoe, ein frakturierter Zahn, eine Hautnekrose sowie eine Schwanzverletzung sind unabhängig vom TI und RI aufgetreten (Tab. 4.3.2-4.3.4).

Das Tier 99.03 hat am 11.07.2018 ungewöhnliche Auf- und Abbewegungen des Kopfes beim Fressen gezeigt. Daraufhin wurde am 12.07.2018 die Mundhöhle untersucht. Dabei wurde festgestellt, dass der 1. Prämolare des rechten Unterkiefers frakturiert war. Danach wurden dem Schwein Carprofen (Rimadyl®, 4 mg/kg KGW, p.o., Zoetis Schweiz GmbH, Zürich, Schweiz) und Omeprazol (GastroGard® 37%, 4 mg/kg KGW, p.o., Biokema SA, Crissier-Lausanne, Schweiz) bis 4 Tage nach der operativen Entfernung des Zahnes in Anästhesie am 18.07.2018 verabreicht. Zusätzlich erhielt es am Tag der OP Amoxicillin/Clavulansäure (Synulox® Suspension, 7 mg/kg KGW, Zoetis Schweiz GmbH, Delémont, Schweiz) intramuskulär und anschliessend für 4 weitere Tage zweimal täglich Amoxicillin/Clavulansäure (Clavubactin® 250 mg/62.5 mg ad us. vet., 12.5 mg/kg, Dr. E. Graeb AG, Bern, Schweiz) peroral.

Tab. 4.3.2: Tier 99.01 Zusammenfassung von allgemeinen und lokalen Befunden

Datum	Befund	Aktion/Behandlung
23.08.18	Diarrhoe	Bakteriologische Untersuchung, Behandlung: biologische Therapie (Wühlerde mit Essig), erfolgreich
26.09.18	Hautnekrose hinter dem linken Ohr	Behandlung nach Verschlechterung (3.10.18): Bepanthen® plus Salbe, erfolgreich

Tab. 4.3.3: Tier 99.02 Zusammenfassung von allgemeinen und lokalen Befunden

Datum	Befund	Aktion/Behandlung
20.08.18	Diarrhoe	Behandlung: biologische Therapie (Wühlerde mit Essig), erfolgreich

Tab. 4.3.4: Tier 99.03 Zusammenfassung von allgemeinen und lokalen Befunden

Datum	Befund	Aktion/Behandlung
11.07.18	Ungewöhnliche Kopfbewegung beim Fressen	Zahnextraktion
20.07.18	Leicht blutende Verletzung am Schwanz	Behandlung: Betadine® desinfizierende Wundsalbe, erfolgreich
23.08.18	Diarrhoe	Behandlung: biologische Therapie (Wühlerde mit Essig), erfolgreich

4.3.2 Tägliche Beurteilung der Injektionsstellen

Die Beurteilung mithilfe des Hockers und Spiegels war durch das Training der Schweine gut möglich. Die Ergebnisse der täglichen Beurteilung der Injektionsbereiche wurden in einer Tabelle pro Tier dokumentiert.

4.3.3 Monatliche makroskopische Beurteilung und Dokumentation

Die Injektionen wurden ab Monat 2 nach der Injektion monatlich makroskopisch und mit tiefer Palpation nach folgenden Parametern beurteilt: Konsistenz, Grösse und sonstige Abnormitäten. Im Allgemeinen war die Konsistenz der Injektionen härter als das umgebende Gewebe, allerdings ist die Differenzierung im Laufe der Zeit, vor allem beim Referenz-Item, schwieriger geworden. In seltenen Fällen konnte das Material nicht mehr palpirt werden (Anhang Tab. 6-20). Die Grösse der Injektionsbereiche konnte lediglich zweidimensional (kraniokaudal und lateromedial) palpirt werden und hat sich mit der Zeit geändert (Tab. 4.3.5-4.3.7). Im Anschluss wurden die einzelnen Injektionsstellen fotografiert (Anhang Abb. 1-6).

Im Rahmen der täglichen und monatlichen makroskopischen Beurteilung der Injektionsstellen wurden Komplikationen wie Abszesse, Austritt von Test-Item und Eiter beobachtet. Abszesse wurden ausschliesslich an Test-Item Injektionen gesehen. Das Tier 99.02 hatte einen Abszess mit Austritt von Test-Item, der vor der Biopsie entstanden ist. Zudem war an einer Biopsiestelle ggr. Eiter und an einer Injektion Austritt von Test-Item ohne Eiter vorhanden. Bei dem Schwein 99.03 haben sich 3 Abszesse entwickelt. Davon 2 vor der Biopsie ohne Austritt von Test-Item und einer nach der Biopsie mit Austritt von

Test-Item. Des Weiteren kam es an einer Injektionsstelle zum Austritt von Test-Item ohne Eiter (Tab. 4.3.8, Tab. 4.3.9).

Tab. 4.3.5: Tier 99.01 Grösse der palpierbaren Gewebereaktion in cm²

	t2m	t3m	t4m	t5m	t6m
Inj. 7 RI	3	2.25	/	4	4
Inj. 9 RI	1	2.25	/	6.25	4
Inj. 11 RI	1	9	4	9	5
Inj. 1 TI	3.75	4	/	4	2.25
Inj. 3 TI	9	6.25	9	12.25	4.5
Inj. 5 TI	5	6.25	9	6.25	7.5

/: Grösse nicht ermittelbar; t: Zeitpunkt; m: Monate, Inj.: Injektion

Tab. 4.3.6: Tier 99.02 Grösse der palpierbaren Gewebereaktion in cm²

	t2m	t3m	t4m	t5m	t6m
Inj. 1 RI	2.25	6.25	2.25	4	4
Inj. 3 RI	3.75	/	4	/	2.25
Inj. 5 RI	9	6.25	9	12.25	6.25
Inj. 7 TI	10.5	10.5	6.25	4	1
Inj. 9 TI	12.25	9	1	6.25	4
Inj. 11 TI	12.25	12	12.25	6.25	6.25

/: Grösse nicht ermittelbar; t: Zeitpunkt; m: Monate, Inj.: Injektion

Tab. 4.3.7: Tier 99.03 Grösse der palpierbaren Gewebereaktion in cm²

	t2m	t3m	t4m	t5m	t6m
Inj. 7 RI	4.5	2.25	4	6.25	/
Inj. 9 RI	6.25	9	9	9	7.5
Inj. 11 RI	10.5	9	9	12.25	12.25
Inj. 1 TI	9	12.25	9	2.25	/
Inj. 3 TI	5	2.25	9	9	4
Inj. 5 TI	14	12.25	4	9	9

/: Grösse nicht ermittelbar; t: Zeitpunkt; m: Monate, Inj.: Injektion

Tab. 4.3.8: Tier 99.02 Besondere Befunde der Injektionsstellen

18.12.18	Abszess an Injektionsstelle 9 (TI), Austritt von TI	Behandlung: Spülung mit Betadine® Lösung (in Anästhesie), Betadine® desinfizierende Wundsalbe, erfolgreich (30.12.18)
16.01.19	Geringe Menge eitrigem Sekret an Biopsiestelle an Injektion 1 (RI)	Behandlung: Reinigung, keine weitere Behandlung notwendig
16.01.19	Grosse Schwellung an Injektionsstelle 7 (TI)	Behandlung: Entfernung von Test-Item (kein Eiter), keine weitere Behandlung notwendig

Tab. 4.3.9: Tier 99.03 Besondere Befunde der Injektionsstellen

23.11.18	Abszess an Injektionsstelle 2 (TI)	Behandlung: Betadine® Lösung (in Anästhesie), Betadine® desinfizierende Wundsalbe, erfolgreich (30.11.18)
30.11.18	Abszess an Injektionsstelle 4 (TI)	Behandlung: Betadine® desinfizierende Wundsalbe, erfolgreich (5.12.18)
04.02.19	Abszess an Biopsiestelle an Injektion 3 (TI), Austritt von Eiter und Test-Item	Behandlung: Betadine® desinfizierende Wundsalbe, erfolgreich (18.02.19)
05.02.19	Austritt von Test-Item an Injektionsstelle 1 (TI)	Behandlung: Entfernung von Test-Item und Spülung (in Anästhesie), erfolgreich (11.02.19)

4.3.4 Monatliche Ultraschalluntersuchung

Es traten keine Komplikationen bei den Sedierungen auf. Im Anschluss an jede Sedierung wurden die Schweine klinisch untersucht. Die Ergebnisse waren zu allen Zeitpunkten ohne besonderen Befund. Alle Anästhesien sind wie geplant verlaufen.

Die Ergebnisse aller Ultraschalluntersuchung sind unter Punkt 4.4.1 Ultraschall zu finden.

Die Schweine zeigten keinerlei Probleme mit der Futteraufnahme.

Alle postoperativen Phasen sind ohne Probleme verlaufen. Die Schweine waren am Abend in der Regel bereits wieder munter und haben abends oder am nächsten Morgen wieder normal gefressen. Das Tier 99.01 war abends häufig noch etwas müde und hat nur zögerlich gefressen. Bei Schwein 99.02 war dies seltener zu beobachten. Am nächsten Morgen waren das Allgemeinbefinden und die Futteraufnahme wieder normal.

4.3.5 MRT und Biopsie (mit Sonografie)

Die Ergebnisse der Vorbereitungen, Anästhesien, Medikationen und postoperativen Phasen sind unter Punkt 4.3.4 monatliche Ultraschalluntersuchung zu finden.

4.3.5.1 MRT

Alle Ergebnisse der MRTs sind bei Punkt 4.4.2 MRT beschrieben.

4.3.5.2 Biopsien

Alle Biopsien wurden wie geplant entnommen. Allerdings war die richtige Stelle zur Entnahme der Biopsien vor allem nach 4 Monaten teilweise schwer zu finden, da das Material weder gefühlt noch mittels Ultraschall gesehen werden konnte. Nach der Entnahme wurden die einzelnen Biopsien fotografiert (Anhang Abb. 7-12).

Es konnten zu keinem Zeitpunkt Anzeichen von Schmerzen im Zusammenhang mit den Biopsien beobachtet werden.

4.4 Bildgebung

4.4.1 Ultraschall

An fast allen Injektionsstellen konnte das injizierte Material dargestellt werden. Im Laufe der Zeit wurde es allerdings schwieriger das injizierte Material vom umliegenden Gewebe zu differenzieren. Besonders beim Referenz-Item war dies zu sehen.

Direkt nach der Injektion war das RI überwiegend als ggr. hyperechogener und homogener Bereich gut erkennbar und abgrenzbar. Lediglich einzelne Injektionen haben sich mgr.-hgr. hypoechogen dargestellt. Nach einem Monat waren die meisten Injektionen ggr.-hgr. hypoechogen und gut erkennbar, aber nicht mehr so gut abzugrenzen wie direkt nach der Injektion. 2 Monate nach der Injektion war das Material teilweise als ggr. hypoechogener und teilweise als isoechogener Bereich zu sehen. Die hypoechogenen Areale waren noch gut erkennbar, aber schlecht abzugrenzen. Die isoechogenen Bereiche waren fast nicht mehr erkennbar. 3 Monate nach der Applikation stellte sich das Material nahezu unverändert zum Vormonat dar. Die Injektionen, an denen im Vormonat eine Biopsie entnommen wurde erschienen zum Grossteil mehr oder weniger unruhig mit iso-, hypo- sowie anechogenen Bereichen und waren nicht gut abgrenzbar. Nach 4 Monaten war die Mehrzahl der Injektionen ggr. bis mgr. hypoechogen und erkennbar. Die ggr. hypoechogenen Bereiche liessen sich im Gegensatz zu den mgr. Injektionen nur schlecht abgrenzen. Einzelne Injektionen waren isoechogen

und kaum zu erkennen. Nach 5 Monaten waren fast alle Injektionen ggr.-mgr. hypoechogen, erkennbar, aber schlecht abzugrenzen. Die Biopsien, die im Vormonat genommen wurden, führten bei den Tieren 99.01 und 99.03 zu keiner eindeutigen Veränderung der Erscheinung. Bei dem Tier 99.02 erschien eine Injektion unruhig mit iso-, hypo- und anechogene Bereichen und war nicht gut abgrenzbar. Die andere Injektion des Tieres war hypoechogen, noch gut erkennbar und relativ gut abzugrenzen. Nach der Euthanasie nach 6 Monaten waren die meisten Injektionen weitgehend unverändert zum vorherigen Monat. Lediglich bei Tier 99.03 waren 4 Injektionen schlechter zu erkennen als nach 5 Monaten und eine Injektion war hgr. hypoechogen, sehr gut erkennbar und gut abgrenzbar.

Im Vergleich mit dem umliegenden Gewebe war das TI direkt nach der Injektion deutlich hypoechogen. Es war gut erkennbar und überwiegend gut abzugrenzen. Einen Monat später waren alle bis auf eine Injektion ggr. bis mgr. hypoechogen von einem mehr oder weniger stark ausgeprägtem anechogenem Saum umgeben. Sie waren sehr gut erkennbar und abgrenzbar. Nach 2 Monaten waren weitgehend alle Injektionen wie im Vormonat und nach 3 Monaten waren einige Injektionen unverändert. 5 von 6 Injektionen, an denen eine Biopsie nach 2 Monaten genommen wurde, waren deutlich hypoechogen und schlecht abgrenzbar. Lediglich eine Injektion stellte sich nach der Biopsie wie im vorherigen Monat dar. 4 Monate nach der Injektion erschienen bei dem Tier 99.01 alle Injektionen und bei Tier 99.02 4 von 6 nahezu unverändert zum Vormonat. 4 Injektionen waren ggr.-mgr. hypoechogen, erkennbar, aber nicht so gut abgrenzbar und 4 Injektionen ggr. hypoechogen mit einem umgebenden anechogenem Saum und gut abgrenzbar. Nach 5 Monaten war circa die Hälfte der Injektionen ohne Biopsie unverändert zum Monat davor. Von den übrigen Injektionen ohne Biopsie war eine mgr. hypoechogen, gut erkennbar und noch recht gut abgrenzbar. Eine Injektion war unruhig mit iso-, hypo- und anechogenen Bereichen und nicht gut abgrenzbar. Eine weitere ggr. hypo- bis isoechogen und kaum abzugrenzen und 2 erschienen kleiner, wovon sich eine isoechogen mit deutlichem anechogenem Saum dargestellt hat. Von den Injektionen, an denen eine Biopsie genommen wurde, waren 3 Injektionen wie im Vormonat. Eine Injektion erschien «unruhig» mit iso-, hypo- und anechogenen Bereichen, hatte keinen anechogenen Saum mehr und war nicht gut abgrenzbar. Eine weitere Injektion war ggr. bis mgr. hypoechogen, erkennbar, aber schlecht abzugrenzen und eine ggr. hypo- bis isoechogen und kaum abzugrenzen. Nach 6 Monaten haben sich bei den Tieren 99.02 und 99.03 alle Injektionen wie im vorherigen Monat dargestellt. Bei dem Schwein 99.01 waren 4

Injektionen gleich geblieben. Eine Injektion war ggr. hypoechogen ohne anechogenen Saum, erkennbar, aber schlecht abzugrenzen und eine weitere war hgr. hypoechogen ohne anechogenen Saum, gut erkennbar, aber nicht gut abgrenzbar.

In der Regel war das TI deutlich besser vom umliegenden Gewebe abzugrenzen als das RI, vor allem zu späteren Zeitpunkten. TI-Injektionen mit einem anechogenen Saum um das injizierte Material waren besonders gut zu differenzieren. 1-2 Monate nach der Biopsie konnte bei einigen Injektionen gesehen werden, dass Gewebe in den Bereich des injizierten Materials eingewachsen war. Der anechogene Saum war teilweise oder vollständig verschwunden und das Material konnte nicht mehr so gut abgegrenzt werden. Das RI hatte im Vergleich zum TI eine dem umgebenden Gewebe ähnlichere Struktur. Das TI erschien häufig leicht granuliert (Anhang Abb. 13-18).

4.4.2 MRT

Bei einigen MRTs waren die kranialen und/oder kaudalen Injektionen (1, 6, 7 und 12) nicht oder nicht vollständig abgebildet bzw. schlecht abgrenzbar. Besonders bei Schwein 99.03 waren auch die mittleren Injektionen teilweise nicht gut abgrenzbar bzw. erkennbar. Bei allen Tieren waren TI und RI direkt nach der Injektion des Materials gut erkennbar.

Das RI war zu Beginn deutlich hypointens und gut abgrenzbar. Bei den folgenden MRTs war das RI zunächst deutlich hypointens, in den späteren MRTs war es nur noch ggr. hypointens und wesentlich schwerer bzw. teilweise kaum noch zu erkennen.

Das TI war ggr.-mgr hypointens, teilweise leicht granuliert und von einem hgr. hypointensen Saum umgeben, wodurch die Injektion sehr gut von dem umgebenden Gewebe abgrenzbar war. Direkt nach der Operation war um das injizierte Material ein, verglichen mit dem restlichen Gewebe, hypointenser Saum vorhanden. In den nächsten MRTs erschienen die Injektionen häufig geschichtet und waren nach 2 und 4 Monaten überwiegend noch sehr gut erkennbar. Nach 6 Monaten war das TI kaum von den Milchdrüsen zu unterscheiden. Lediglich die kaudalen 1-2 Injektionen, von denen keine Biopsien genommen wurden, waren noch so gut sichtbar wie nach 4 Monaten. Das TI liess sich im Allgemeinen bei allen Tieren deutlich besser erkennen als das RI.

Die Bolus-Injektionen mit TI waren nach 2 und 4 Monaten überwiegend regelmässig und rund geformt. Direkt nach der Operation und nach 6 Monaten waren sie deutlich unregelmässiger. Die Boli mit RI waren auch nach 2 und 4 Monaten häufig unregelmässiger als die mit TI.

Die Stern-Injektionen waren bei dem TI direkt nach der Injektion häufig verzweigt und perlschnurartig. Die einzelnen Strahlen der Injektion waren bei den meisten Injektionen gut sichtbar. 2 Monate später waren die Strahlen deutlich breiter und teilweise nicht mehr zusammenhängend. Ab 4 Monaten nach der Injektion waren die sternförmigen Injektionen überwiegend als kleinere, nicht verbundene bolusartige Bereiche zu erkennen. Bei den Stern-Injektionen mit RI war direkt, 2 und 4 Monate nach der Applikation bei den meisten Injektionen ein bolusartiger Bereich sichtbar, wo die Strahlen zusammentreffen. Die Strahlen der Injektionen waren seltener und schlechter zu erkennen als beim TI. Mit zunehmender Zeit waren die sternförmigen Injektionen schwerer abzugrenzen und zu sehen. Nach 6 Monaten waren die Injektionen mit RI kaum noch zu erkennen (Anhang Abb. 19-24).

4.5 Postmortale Untersuchungen

Nach der Euthanasie wurden die Bereiche aller Injektionen als Ganzes entnommen, fotografiert und makroskopisch beurteilt. Bei einigen Test-Item Injektionen konnten knotige Strukturen gesehen werden. Diese ovalen Bereiche waren von cremig-pastöser Konsistenz, von festem Gewebe umgeben und ausschliesslich bei Test-Item Injektionen zu finden. Betroffen waren bei Tier 99.01 die Injektionen 5 und 6, bei Tier 99.02 die Injektion 11 und bei Schwein 99.03 die Injektion 6. Alle anderen Injektionen zeigten eine homogene Struktur und eine dem umliegenden Gewebe gleichende Konsistenz. Manche Injektionen waren von leicht verfestigter Konsistenz, zum Teil mit verdickten bindegewebigen Strängen, die irregulär über die gesamte Fläche zogen. Es konnte weder eine Umfangsvermehrung noch eine Kapselbildung gesehen werden (Anhang Abb. 7-12).

4.6 Auswertung

4.6.1 Tägliche Beurteilung der Injektionsstellen

Zur besseren Übersicht der Befunde «Tägliche Beurteilung der Injektionsstellen» wurden nur diejenigen Kriterien in Tabellen übertragen, die einen Score höher als 1 (unphysiologisch) hatten (Anhang Tab. 21-30). Für jedes Tier wurde zudem die Anzahl der Tage mit einem auffälligen Befund je Injektion und Kriterium in einer Tabelle dokumentiert (Anhang Tab. 31-33). Zusätzlich wurden Diagramme erstellt, die die Entwicklung aller Injektionen pro Tier und Kriterium über die gesamte Zeit zeigen (Anhang Abb. 25-36).

4.6.1.1 Tier 99.01

Bei den Injektionen 7 bis 10 (RI) waren lediglich Rötungen im Anschluss an die Biopsie sichtbar. Ansonsten sind bis auf die Veränderungen durch das injizierte Material (teilweise sichtbare und zu palpierende Volumenzunahme) keine Auffälligkeiten vorhanden gewesen. Die Injektionen 5 (TI), 6 (TI), 11 (RI) und 12 (RI) zeigten keine Veränderungen in Farbe, Temperatur, Sekret oder Schwellung.

Bei den Injektionen 1 bis 4 (TI) waren zusätzlich zu den Rötungen nach der Biopsie weitere Auffälligkeiten erkennbar. Bei Injektion 1 war die Farbe für 27 Tage rötlich (davon 5 nach 1. Biopsie) und es wurde über 3 Tage eine leichte Schwellung gesehen. Injektion 2 war für 20 Tage rötlich (davon 7 nach 1. Biopsie) und für 10 Tage leicht geschwollen. Bei der 3. Injektion wurde 13 Tage eine rötliche Farbe (davon 11 nach 2. Biopsie) und 8 Tage eine leichte Schwellung festgestellt. Die 4. Injektion war nach der OP für 18 Tage rötlich, für 9 Tage leicht und für einen Tag deutlich geschwollen, 4 Tage leicht wärmer als die Umgebung und für einen Tag leicht nässend. Zusätzlich wurde bei der 4. Injektion für 9 Tage nach der Biopsie eine rötliche Farbe gesehen.

Lediglich bei Injektionen mit Test-Item waren Veränderungen (Rötung, Schwellung, Wärme und Sekret) sichtbar, die nicht direkt im Anschluss an die Injektion oder eine Biopsieentnahme auftraten (Anhang Tab. 31).

4.6.1.2 Tier 99.02

Bei den Injektionen 2 bis 4 (RI) waren ausser Rötungen nach der Biopsieentnahme und den Veränderungen durch das injizierte Material (teilweise sichtbare und zu palpierende Volumenzunahme) keine Auffälligkeiten zu finden. Die Injektionen 5 und 6 (RI) zeigten zu keiner Zeit Veränderungen in Farbe, Temperatur, Sekret oder Schwellung. Die Injektion 1 (RI) war für 12 Tage rötlich gefärbt (davon 5 Tage nach 1. Biopsie) und für einen Tag leicht geschwollen.

Bei den Injektionen 7 bis 12 (TI) wurden neben den Rötungen im Anschluss an die Biopsie weitere Veränderungen beobachtet. Die Injektion 7 hatte für 20 Tage eine rötliche Farbe (davon 5 Tage nach 1. Biopsie) und für 17 Tage eine leichte und für einen Tag eine deutliche Schwellung. Bei der 8. Injektion konnte für 15 Tage eine rötliche Farbe (davon 5 Tage nach 1. Biopsie) und 5 Tage eine leichte Schwellung festgestellt werden. Die 9. Injektion war für 35 Tage rötlich, für 26 Tage leicht und für 3 Tage deutlich geschwollen, für 11 Tage leicht wärmer als die Umgebung und es war seröses Sekret vorhanden. Die meisten dieser Veränderungen wurden im Zusammenhang mit einem Abszess gesehen.

Die Injektion 10 hatte für 18 Tage eine rötliche Farbe (davon 8 Tage nach 2. Biopsie) und für 3 Tage eine leichte Schwellung. Bei der Injektion 11 war für 11 Tage eine leichte Schwellung sichtbar (bis zur Euthanasie). Die 12. Injektion hat 27 Tage eine leichte Rötung, 26 Tage eine leichte Schwellung und 6 Tage eine leichte Erhöhung der Temperatur gezeigt.

Bei Injektion 1 (RI) und bei allen TI-Injektionen waren Veränderungen (Rötung, Schwellung, Wärme und Sekret) sichtbar, die zeitlich nicht im Zusammenhang mit der OP oder einer Biopsieentnahme standen. Zudem war an der 9. Injektion ein Abszess zu finden (Anhang Tab. 32).

4.6.1.3 Tier 99.03

Bei den Injektionen 5 (TI), 7 (RI), 9 (RI), 11 (RI) und 12 (RI) waren ausser Rötungen und Schwellungen nach der Operation bzw. Biopsie und den Veränderungen durch das injizierte Material (teilweise sichtbare und zu palpierende Volumenzunahme) keine Auffälligkeiten erkennbar. Bei allen Injektionen war am Tag nach der Operation eine leichte Schwellung vorhanden. Die Injektionen 8 und 10 (RI) zeigten nur wenige Veränderungen, die nicht im Zusammenhang mit der Operation oder Biopsie standen. Bei Injektion 8 war für 14 Tage (davon 7 Tage nach der Injektion und 6 Tage nach 1. Biopsie) und bei Injektion 10 für 12 Tage (davon 8 Tage nach 2. Biopsie) eine rötliche Farbe sichtbar.

Zusätzlich zu Schwellungen und Rötungen unmittelbar nach der Operation oder Biopsieentnahme waren bei den Injektionen 1 bis 4 und 6 (TI) weitere Veränderungen sichtbar. Die 1. Injektion war für 31 Tage (davon 9 Tage nach 1. Biopsie) rötlich und für 14 Tage (davon 1 Tag nach der Injektion) leicht geschwollen. Bei Injektion 2 wurde für 27 Tage (davon 9 Tage nach 1. Biopsie) eine rötliche Farbe und für 4 Tage (davon 1 Tag nach der Injektion) eine leichte Schwellung gesehen. Zusätzlich war an der 2. Injektion ein Abszess vorhanden, der nach Eröffnung für 10 Tage rötlich war. Bei der 3. Injektion wurden alle Veränderungen nach der Biopsieentnahme festgestellt. Es war für 16 Tage eine rötliche und für 2 Tage rote Farbe sichtbar. Zudem hat sich für 11 Tage eine leichte und für weitere 11 Tage eine deutliche Schwellung gezeigt. Die Temperatur war 4 Tage leicht erhöht und es war 5 Tage eitriges Sekret vorhanden. Auch bei der 4. Injektion war ein Abszess vorhanden. Die Injektion war 26 Tage (davon 9 Tage nach 2. Biopsie) rötlich, für 9 Tage leicht geschwollen (davon 1 Tag nach der Injektion) und für 2 Tage leicht wärmer als die Umgebung. Zusätzlich war über 2 Tage eitriges Sekret zu erkennen. Die

meisten dieser Veränderungen wurden im Zusammenhang mit dem Abszess gesehen. Die 6. Injektion hatte für 10 Tage eine rötliche Farbe und für 12 Tage (davon 1 Tag nach der Injektion) eine leichte Schwellung. Bei der 8. und 10. Injektion (RI) und bei allen TI-Injektionen ausser der 5. waren Veränderungen (Rötung, Schwellung, Wärme und Sekret) sichtbar, die nicht nach der OP oder einer Biopsieentnahme aufgetreten sind. Zudem war an der 2., 3. und 4. Injektion (TI) jeweils ein Abszess zu finden (Anhang Tab. 33).

4.6.1.4 Zusammenfassung der Befunde aller Tiere

Insgesamt waren an 4 Injektionen mit TI Abszesse zu finden und an einer Injektion ist TI ohne eitriges Sekret ausgetreten. Bei den RI-Injektionen war kein Abszess vorhanden. Es war lediglich an einer Biopsiestelle eitriges Sekret sichtbar. Bei RI-Injektionen waren nur Veränderungen der Farbe oder Schwellungen zu beobachten. Veränderungen bei der Temperatur und Sekret gab es ausschliesslich bei TI-Injektionen.

Zudem wurden die durchschnittlichen Tage mit Abweichungen vom physiologischen Zustand (Score >1) pro Injektion und Kriterium berechnet. Dabei wurde jeweils ein Wert mit allen Veränderungen und ein Wert ohne die Auffälligkeiten direkt im Anschluss an die Injektion oder Biopsie berechnet. Diese Berechnungen wurden für Test- und Referenz-Item getrennt durchgeführt. Im Allgemeinen wurden hauptsächlich Rötungen und Schwellungen der Injektionsstellen beobachtet.

Bei den TI-Injektionen war im Durchschnitt für 18 Tage eine leicht- und an weniger als einem Tag eine mittelgradige Rötung sichtbar. Durchschnittlich waren diese Injektionen an 9 Tagen leicht und an einem Tag mittelgradig geschwollen. Für durchschnittlich jeweils weniger als einen Tag war eine leichte Nässe der Injektionsstelle, seröses bzw. eitriges Sekret erkennbar. Die Injektionen waren im Durchschnitt 2 Tage leicht wärmer als die Umgebung. Die RI-Injektionen waren durchschnittlich 6 Tage leichtgradig gerötet und weniger als ein Tag leicht geschwollen. Diese Werte wurden mit den Veränderungen direkt im Anschluss an die Injektion oder eine Biopsie berechnet.

Ohne die Veränderungen, die unmittelbar nach der Injektion oder einer Biopsie aufgetreten sind, waren die TI-Injektionen durchschnittlich 14 Tage leichtgradig und weniger als einen Tag mittelgradig gerötet. Im Durchschnitt waren diese Injektionen 9 Tage leicht und einen Tag mittelgradig geschwollen. Es war für durchschnittlich jeweils weniger als einen Tag eine leichte Nässe, seröses bzw. eitriges Sekret vorhanden. Die Temperatur war im Durchschnitt für 2 Tage leicht erhöht. Beim RI waren nur

Veränderungen in der Farbe und Schwellungen vorhanden. Durchschnittlich waren die Injektionen einen Tag leichtgradig gerötet und weniger als einen Tag leicht geschwollen. Die Hauptunterschiede zwischen TI und RI wurden bei den Kriterien Farbe Score 2 (18 Tage [TI] - 6 Tage [RI]) und Schwellung Score 2 (9.4 Tage [TI] - 0.4 Tage [RI]) gesehen. Die Kriterien Sekret und Temperatur waren ausschliesslich bei TI-Injektionen zu finden. Wurden die Veränderungen direkt nach der Injektion oder einer Biopsie aus der Berechnung ausgeschlossen waren diese Unterschiede noch deutlicher. Die Befunde in den Injektionsbereichen waren bei RI-Injektionen hauptsächlich nach der Injektion und den Biopsieentnahmen zu beobachten (Tab. 4.6.1).

Tab. 4.6.1: Anzahl der durchschnittlichen Tage mit einem Score >1

		Scores nach OP und Biopsie (Tage) enthalten		Scores nach OP und Biopsie (Tage) ausgenommen	
Parameter	Score	TI	RI	TI	RI
Farbe	2	17.89	6.00	13.61	0.66
	3	0.11	0	0.11	0
Schwellung	2	9.44	0.39	8.61	0.06
	3	0.89	0	0.88	0
Sekret	2	0.06	0	0.06	0
	3	0.11	0	0.11	0
	4	0.39	0	0.39	0
Temperatur	2	1.50	0	1.50	0

rot: erhebliche Unterschiede

Scores:

- Farbe des Injektionsbereiches: 1: physiologisch, 2: rötlich, 3: rot, 4: dunkelrot
- Lokale Temperatur: 1: physiologisch, 2: leicht wärmer, 3: deutlich wärmer, 4: heiss
- Sekret: 1: kein Sekret, 2: leicht nässend, 3: seröses/serosanguinöses Sekret, 4: eitriges Sekret
- Naht: 1: keine Befunde, 2: leichte Dehiszenz, aber in Granulation, 3: deutlich auseinanderklaffend, 4: vollständige Dehiszenz. (Score 1, wenn keine Nähte vorhanden sind)
- Lokale Schwellung: 1: keine Schwellung, 2: leichte Schwellung, 3: deutliche Schwellung, 4: starke Schwellung

4.6.2 Monatliche makroskopische Beurteilung und Dokumentation

Anhand der Tabellen mit den Massen der palpierbaren Gewebereaktion (Tab. 4.3.5-4.3.7) wurden Diagramme erstellt, die den Verlauf über die Zeit veranschaulichen (Abb. 4.6.1-4.6.3).

4.6.2.1 Tier 99.01

Bei einer TI- (1) und 2 RI-Injektionen (7, 9) konnte die Grösse 4 Monate nach der Injektion nicht ermittelt werden. Die TI Injektionen hatten 2 Monate nach den Injektionen höhere palpierbare Grössen (3.75-9 cm²) als das RI (1-3 cm²). Die Grösse stieg bei allen TI-Injektionen zunächst an und wurde dann bei einer Injektion in Monat 5 und bei den 2 anderen Injektionen in Monat 6 geringer. Bei 2 von 3 TI-Injektionen war die Grösse nach 6 Monaten mit 2.25-4.5 cm² geringer als nach 2 Monaten. Bei der anderen war sie gestiegen (7.5 cm²). Bei allen RI-Injektionen war die Grösse nach 6 Monaten mit 4-5 cm² höher als 2 Monate nach der Injektion. Die Grösse der einen RI-Injektion, bei der zu allen Zeitpunkten Masse vorlagen, schwankte stark.

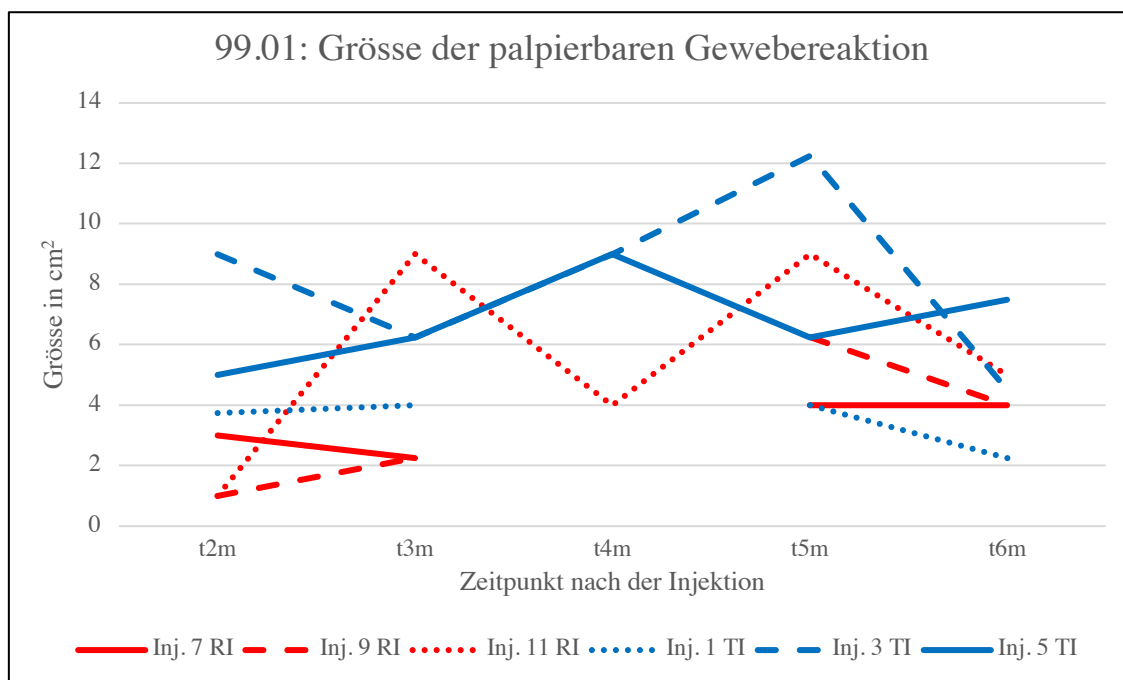


Abb. 4.6.1: Tier 99.01 Grösse der palpierbaren Gewebereaktion; t: Zeitpunkt; m: Monate, Inj.: Injektion

4.6.2.2 Tier 99.02

Bei einer RI-Injektion (3) konnte die Grösse nach 3 und 5 Monaten nicht ermittelt werden. Daher war der Grössenverlauf dieser Injektion nicht kontinuierlich nachvollziehbar. Alle TI-Injektionen waren 2 Monate nach der Injektion grösser (10.5-12.25 cm²) als die RI-Injektionen (2.25-9 cm²). Bei allen 3 TI-Injektionen war die Grösse nach 6 Monaten mit 1-6.25 cm² kleiner im Vergleich zum Zeitpunkt 2 Monate nach der Applikation. Bei den RI-Injektionen schwankte das Volumen ohne erkennbaren Trend. Eine RI-Injektion war 6 Monate nach der Injektion grösser (4 cm²) und 2 waren kleiner (2.25-6.25 cm²), verglichen mit der Messung 2 Monate nach der Injektion.

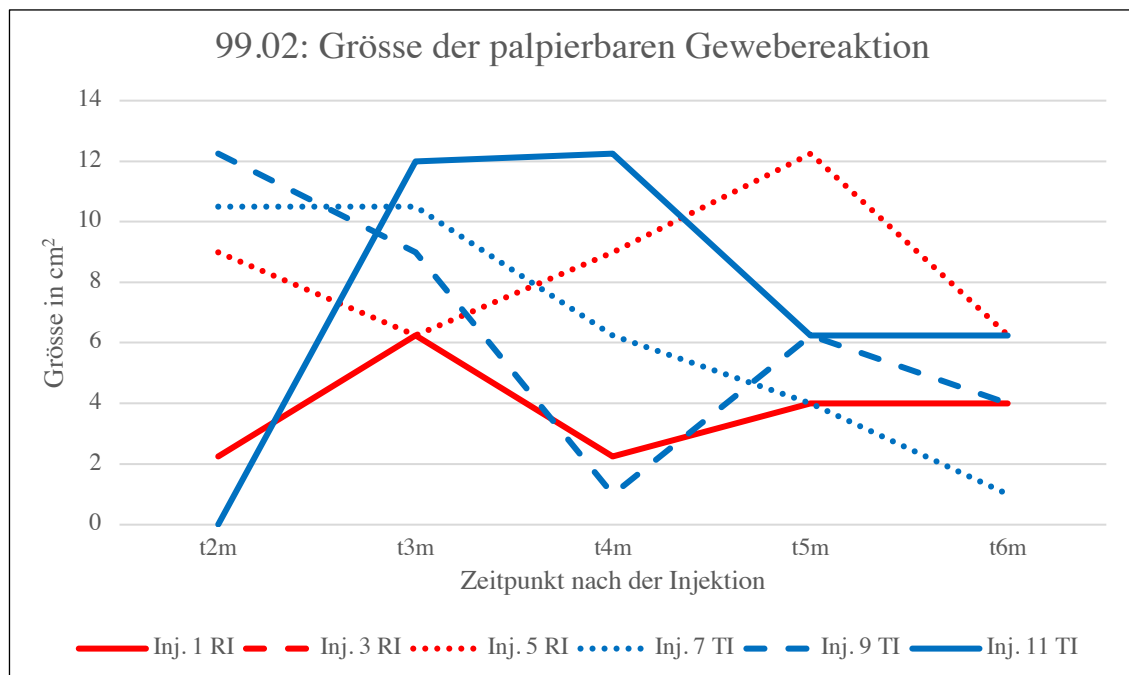


Abb. 4.6.2: Tier 99.02 Grösse der palpierbaren Gewebereaktion; t: Zeitpunkt; m: Monate, Inj.: Injektion

4.6.2.3 Tier 99.03

Bei einer RI- (7) und einer TI-Injektion (1) konnte die Grösse 6 Monate nach der Applikation nicht ermittelt werden. Die durchschnittliche Grösse der TI-Injektionen war 2 Monate nach der Injektion grösser als die der RI-Injektion. Im Gegensatz zu den Tieren 99.01 und 99.02 waren allerdings nicht alle TI-Injektionen grösser als die RI-Injektionen. Alle 3 TI-Injektionen waren 5 (Inj. 1) bzw. 6 Monate nach der Injektion mit 2.25-9 cm² kleiner als nach 2 Monaten. Nach 5 (Inj. 7) bzw. 6 Monaten waren alle 3 RI-Injektionen mit 6.25-12.25 cm² grösser als 2 Monate nach der Injektion.

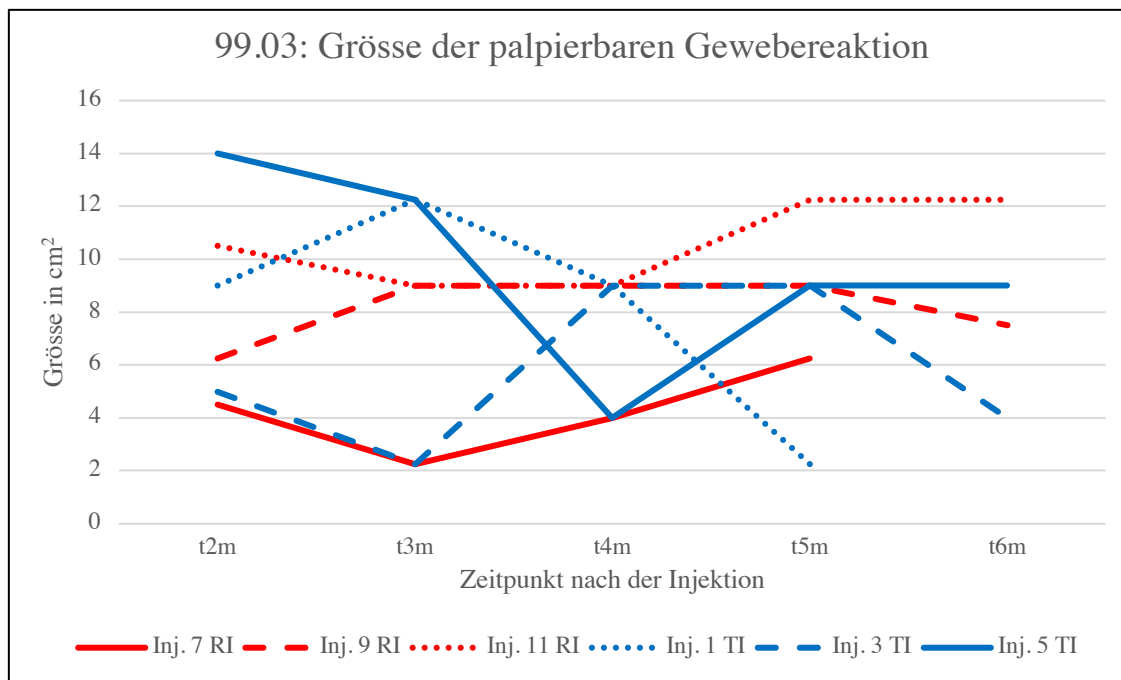


Abb. 4.6.3: Tier 99.03 Grösse der palpierbaren Gewebereaktion; t: Zeitpunkt; m: Monate, Inj.: Injektion

4.6.2.4 Zusammenfassung

Die TI-Injektionen waren anfangs überwiegend grösser als die RI-Injektionen und wurden alle bis auf eine Injektion zum Ende hin kleiner. Bei den RI-Injektionen waren 7 von 9 nach 6 Monaten grösser als 2 Monate nach der Injektion und die anderen 2 kleiner.

4.6.3 Monatliche Ultraschalluntersuchung

Die Hauptfrage, die mit den Ultraschalluntersuchungen beantwortet werden sollte, war, ob sich das injizierte Volumen im Laufe der Zeit verändert. Anhand der gespeicherten Bilder (Anhang Abb. 13-18) der monatlichen Ultraschalluntersuchung wurde der Durchmesser des sichtbaren Test- und Referenz-Items in 2 Dimensionen ermittelt. Hierzu wurden für jede Injektion (Bolos- und Stern-Injektion) 3 verschiedene Durchmesser (lateromedial, kraniokaudal und ventrodorsal) bestimmt (Anhang Tab. 34-36).

Für Berechnung der Volumina (in cm^3) wurden lediglich die maximalen Werte der Bolus-Injektionen verwendet, da davon auszugehen war, dass versehentlich zu klein, aber nicht zu gross gemessen werden konnte. Dies wurde mit der Formel für die Volumenberechnungen von tri-axialen Ellipsoiden durchgeführt (Tab. 4.6.2-4.6.4). Mit den erhaltenen Werten wurde ein Diagramm pro Tier erstellt, in dem der zeitliche Verlauf des Volumens dargestellt wurde (Abb. 4.6.4-4.6.6). Es war kein eindeutiger Trend im Verlauf der Volumina zu erkennen. Bei dem Schwein 99.01 nahm das RI zunächst an Volumen zu und am Ende ab. Zudem war das Volumen der TI Injektionen konstanter. Bei Tier 99.02 hatten die TI-Injektionen zu Beginn ein geringeres Volumen als die RI.

Ansonsten war kein klarer Trend erkennbar. Beim Schwein 99.03 war das Volumen aller Injektionen konstanter als bei den beiden anderen Tieren. Die TI Injektionen hatten überwiegend ein höheres Volumen als die RI-Injektionen. Lediglich Injektion 9 (RI) hatte in den ersten 2 Monaten ein höheres und sich deutlich änderndes Volumen. Auch die Entnahme der Biopsien hatte keinen einheitlichen Einfluss auf das Volumen. Einige Injektionsstellen nahmen leicht an Volumen zu (99.01: Inj. 3, 99.02: Inj. 7 und 9, 99.03: Inj. 1, 3, 7 und 9), eine Injektion verlor an Volumen (99.02: Inj. 3.)

Tab. 4.6.2: Tier 99.01 Ergebnisse der Volumenberechnung (cm³) basierend auf den sonografischen Messungen

Item/Inj.stelle	t0m	t1m	t2m	t3m	t4m	t5m	t6m
TI 1	1.145	2.714	1.387	0.800	0.299	0.096	0.73
TI 3	/	1.596	2.177	2.404	2.507	2.853	0.505
TI 5	/	2.388	2.238	2.59	2.34	2.385	2.182
RI 7	5.648	7.147	4.026	1.257	0.229	0.881	0.54
RI 9	/	0.279	4.318	0.645	0.531	0.52	0.513
RI 11	/	0.824	1.801	/	0.659	0.938	1.069

/: Grösse nicht ermittelbar; t: Zeitpunkt; m: Monate, Inj.: Injektion

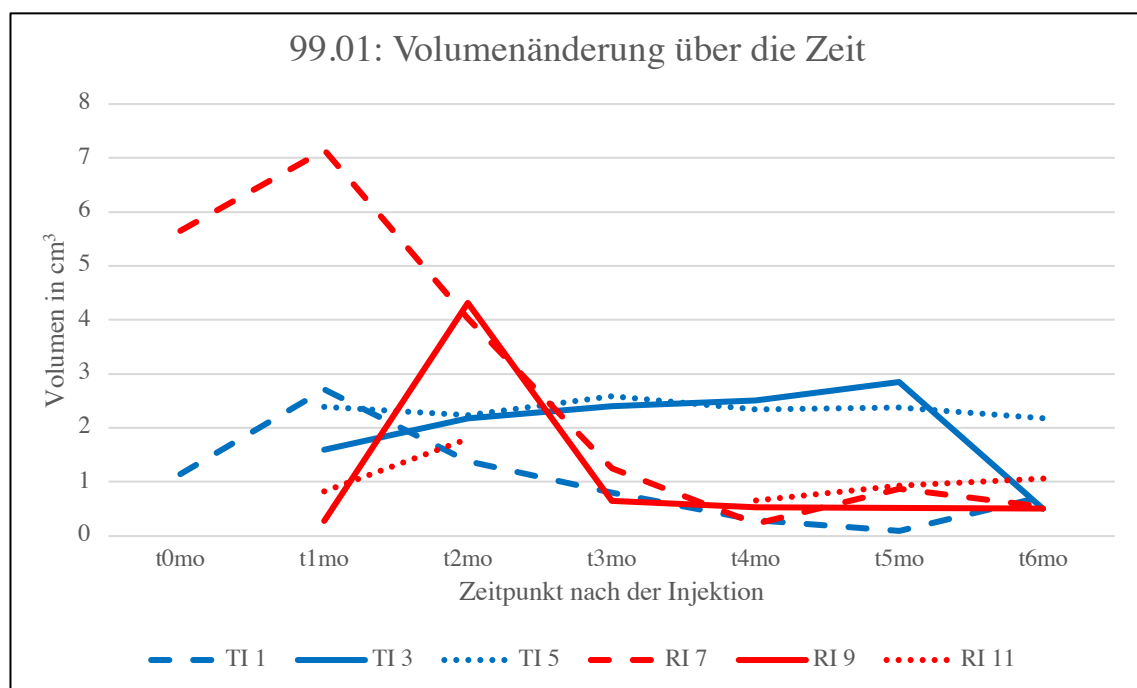


Abb. 4.6.4: Tier 99.01 Ergebnisse der Volumenberechnung (cm³) basierend auf den sonografischen Messungen; t: Zeitpunkt; m: Monate, Inj.: Injektion

Tab. 4.6.3: Tier 99.02 Ergebnisse der Volumenberechnung (cm³) basierend auf den sonografischen Messungen

Item/Inj.stelle	t0m	t1m	t2m	t3m	t4m	t5m	t6m
TI 7	1.125	3.760	3.499	4.020	3.695	1.427	1.697
TI 9	1.445	3.862	3.754	4.809	0.562	1.151	0.549
TI 11	1.250	4.454	3.328	3.557	3.020	2.866	3.113
RI 1	3.211	4.311	2.718	2.069	1.458	0.409	4.010
RI 3	3.272	6.035	4.297	1.278	2.599	0.778	2.413
RI 5	/	2.535	1.186	/	/	/	1.247

/: Grösse nicht ermittelbar; t: Zeitpunkt; m: Monate, Inj.: Injektion

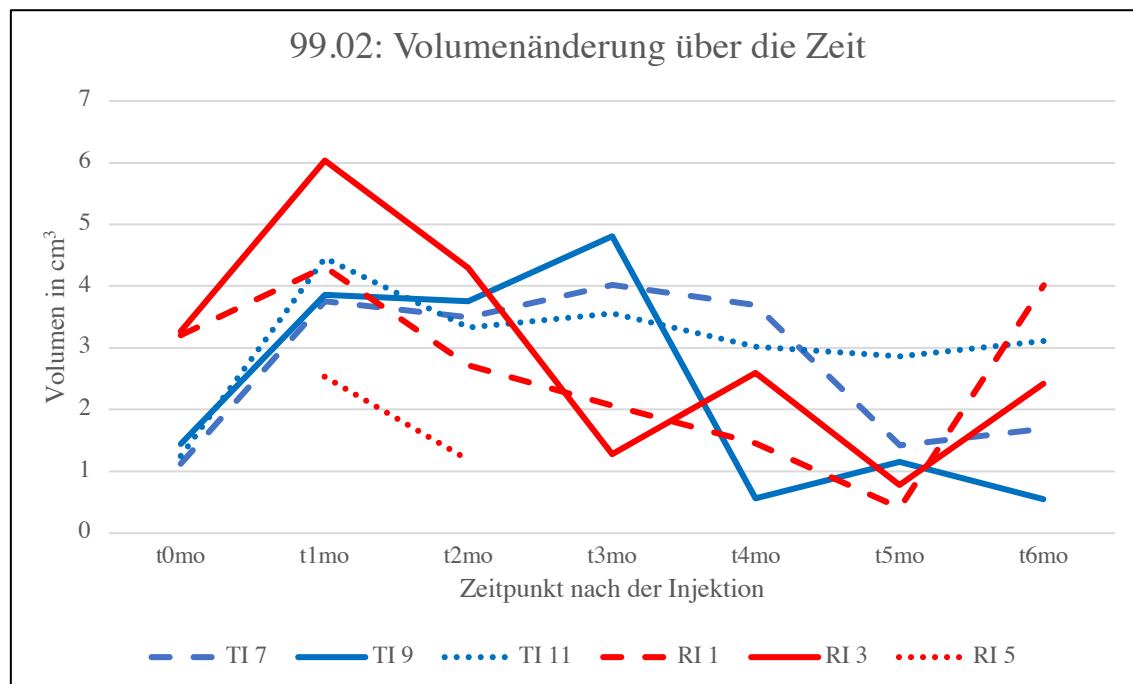


Abb. 4.6.5: Tier 99.02 Ergebnisse der Volumenberechnung (cm³) basierend auf den sonografischen Messungen;
t: Zeitpunkt; m: Monate, Inj.: Injektion

Tab. 4.6.4: Tier 99.03: Ergebnisse der Volumenberechnung (cm³) basierend auf den sonografischen Messungen

Item/Inj. stelle	t0m	t1m	t2m	t3m	t4m	t5m	t6m
TI 1	1.636	5.705	3.126	3.406	4.075	1.235	1.711
TI 3	/	3.395	5.362	3.388	2.986	5.791	1.319
TI 5	3.097	3.986	3.135	3.821	3.269	2.864	2.38
RI 7	1.273	1.633	0.42	2.166	1.33	1.288	0.572
RI 9	3.44	8.842	1.271	1.808	0.286	1.477	1.554
RI 11	0.853	1.658	2.05	1.147	0.79	/	1.033

/: Grösse nicht ermittelbar; t: Zeitpunkt; m: Monate, Inj.: Injektion

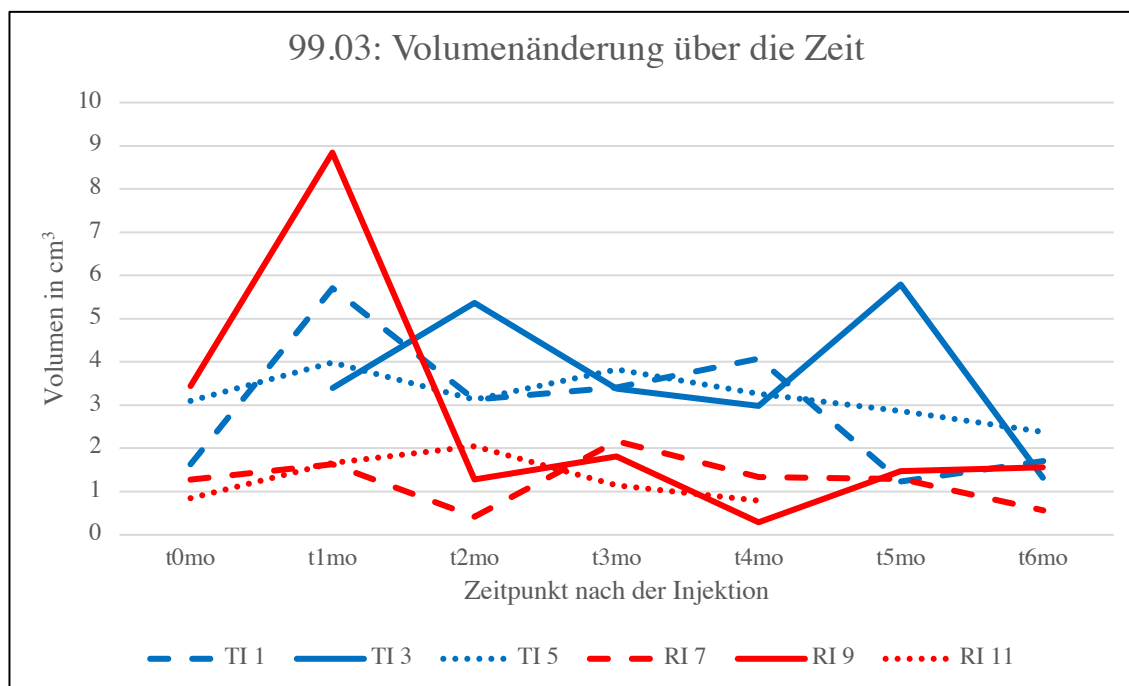


Abb. 4.6.6: Tier 99.03 Ergebnisse der Volumenberechnung (cm³) basierend auf den sonografischen Messungen; t: Zeitpunkt; m: Monate, Inj.: Injektion

4.6.4 MRT

Von jeder Injektion wurden aus den MRT Dateien einzelne Bilder gespeichert (Anhang Abb. 19-24). Mit Hilfe des «tumor tracking» Paketes der Software Intellispace® (Philipps) wurde das Volumen aller Bolus-Injektionen bestimmt. Dafür wurde der Umriss des injizierten Materials manuell in jeder Ebene markiert (Anhang Abb. 37-39). Die Software berechnete anschliessend das Volumen in cm³ (Tab. 4.6.5-4.6.7). Anhand dieser Werte wurden Diagramme erstellt, die den Verlauf über die Zeit zeigen (Abb. 4.6.7-4.6.9).

Die Markierung des Umrisses war bei einigen Injektionen schwierig, weil das Material oder die Grenzen zum umliegenden Gewebe nicht gut oder nicht in allen Ebenen gesehen werden konnten. Das Volumen des injizierten Materials hatte sich über die Zeit bei allen Injektionsstellen ohne eindeutigen Trend geändert. Bei den Tieren 99.01 und 99.02 war das sichtbare Volumen des TIs bei der Messung im Anschluss an die Applikation bei allen Injektionen kleiner als das der RI-Injektionen und lag nah beieinander. Bei dem Schwein 99.03 war das nicht zu beobachten und die Volumina wichen stärker voneinander ab. Verglichen mit dem Volumen direkt nach der Injektion stieg das Volumen bei 6 von 9 Injektionen bis zum Zeitpunkt 6 Monate nach der Applikation. Bei den übrigen 3 Injektionen war das Volumen nach 6 Monaten ggr. kleiner als direkt nach der Injektion. 6 Monate nach der Injektion war das TI-Volumen bei allen Injektionen ausser einer (99.01 Inj. 1) höher als das RI-Volumen. Das Volumen der RI-Injektionen war bei den Tieren 99.01 und 99.02 zu Beginn zwischen 4 und 6 cm³. Die Volumina bei

dem Schwein 99.03 lagen weiter auseinander. Bei allen Tieren war das RI-Volumen nach 6 Monaten geringer (0.5-1.5 cm³) verglichen mit der Messung unmittelbar nach der Injektion. Auch nach den Biopsien konnte kein offensichtlicher Einfluss auf das Volumen festgestellt werden.

Tab. 4.6.5: Tier 99.01 MRT-Messungen des injizierten Materials über die Zeit

Injektions- stelle	Item	Injiziertes Volumen (cm ³)	Volumen nach Injektion (cm ³)	Volumen nach 2 Monaten (cm ³)	Volumen nach 4 Monaten (cm ³)	Volumen nach 6 Monaten (cm ³)
1	Test-Item	5	0.98	1.476*	0.862*+	0.724*+
3	Test-Item	5	1.023	3.284	3.374	2.71+
5	Test-Item	5	1.508	3.581	3.859	4.781
7	Referenz- Item	5	4.526	4.784	1.929+	1.165+
9	Referenz- Item	5	5.751	3.278	0.999	1.537+
11	Referenz- Item	5	5.007	7.9	1.451*	1.099*

*nicht vollständig nachvollziehbar, + Biopsie 2 Monate davor

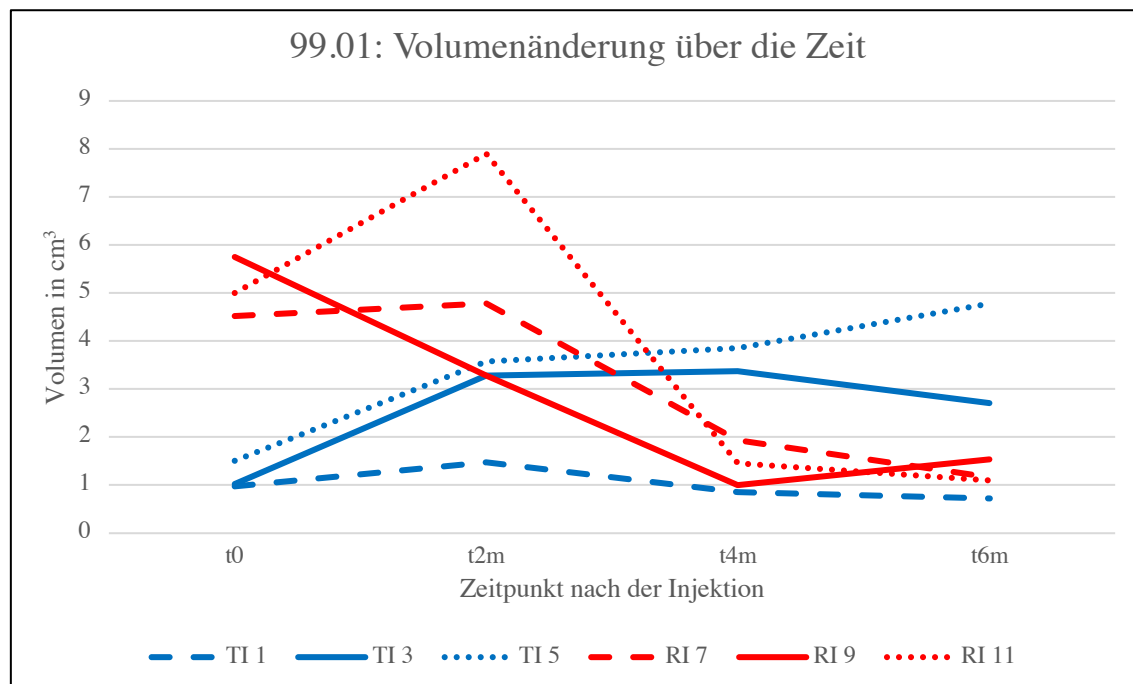


Abb. 4.6.7: Tier 99.01 Ergebnisse der Volumenberechnung (cm³) basierend auf den MRT-Messungen; t: Zeitpunkt; m: Monate, Inj.: Injektion

Tab. 4.6.6: Tier 99.02 MRT-Messungen des injizierten Materials über die Zeit

Injektions- stelle	Item	Injiziertes Volumen (cm ³)	Volumen nach Injektion (cm ³)	Volumen nach 2 Monaten (cm ³)	Volumen nach 4 Monaten (cm ³)	Volumen nach 6 Monaten (cm ³)
1	Referenz- Item	5	4.522	3.441	1.786+	0.625*+
3	Referenz- Item	5	5.283	3.305	0.936	0.957+
5	Referenz- Item	5	5.74	4.604	0.606*	0.522*
7	Test-Item	5	1.794	5.892	6.733+	3.851*+
9	Test-Item	5	1.93	7.495	1.700*	1.271+
11	Test-Item	5	1.979	2.775*	5.015	6.879

*nicht vollständig nachvollziehbar, + Biopsie 2 Monate davor

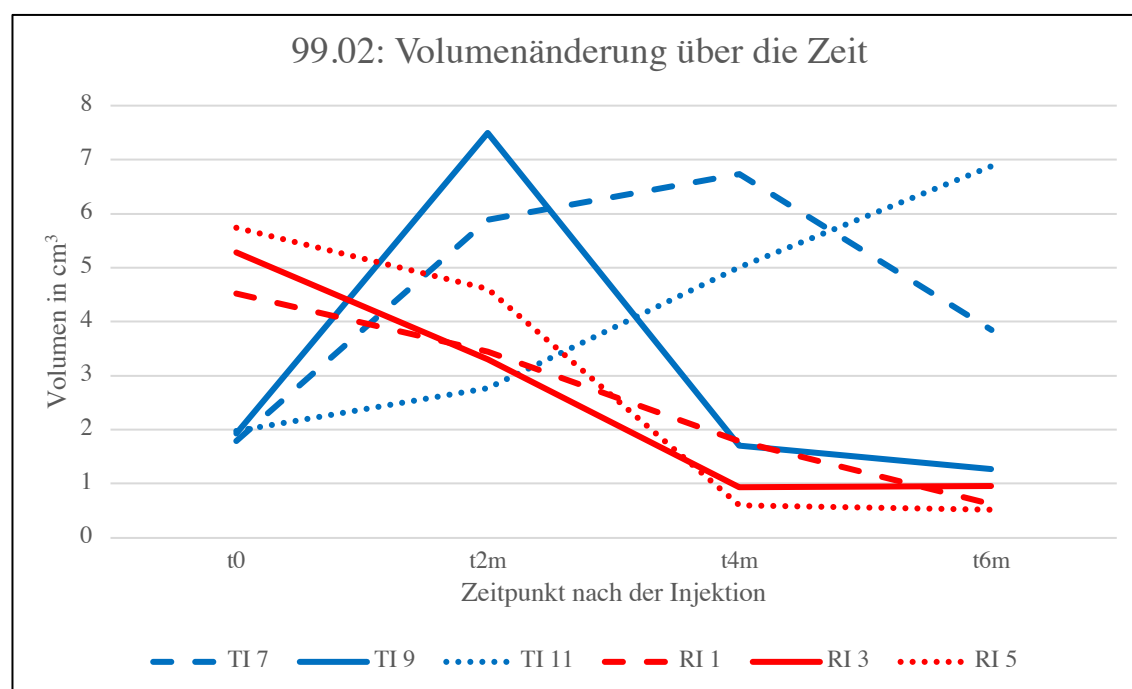


Abb. 4.6.8: Tier 99.02 Ergebnisse der Volumenberechnung (cm³) basierend auf den MRT-Messungen; t: Zeitpunkt; m: Monate, Inj.: Injektion

Tab. 4.6.7: Tier 99.03 MRT-Messungen des injizierten Materials über die Zeit

Injektions- stelle	Item	Injiziertes Volumen (cm ³)	Volumen nach Injektion (cm ³)	Volumen nach 2 Monaten (cm ³)	Volumen nach 4 Monaten (cm ³)	Volumen nach 6 Monaten (cm ³)
1	Test-Item	5	1.041*	7.15*	6.926+	2.570+
3	Test-Item	5	4.744*	6.094	5.307	3.936+
5	Test-Item	5	2.401*	4.637	5.236	5.428
7	Referenz- Item	5	1.909*	0.657*	0.554+	0.456*+
9	Referenz- Item	5	7.481	3.317*	0.944*	0.308*+
11	Referenz- Item	5	4.124	3.402	0.654*	0.247*

*nicht vollständig nachvollziehbar, + Biopsie 2 Monate davor

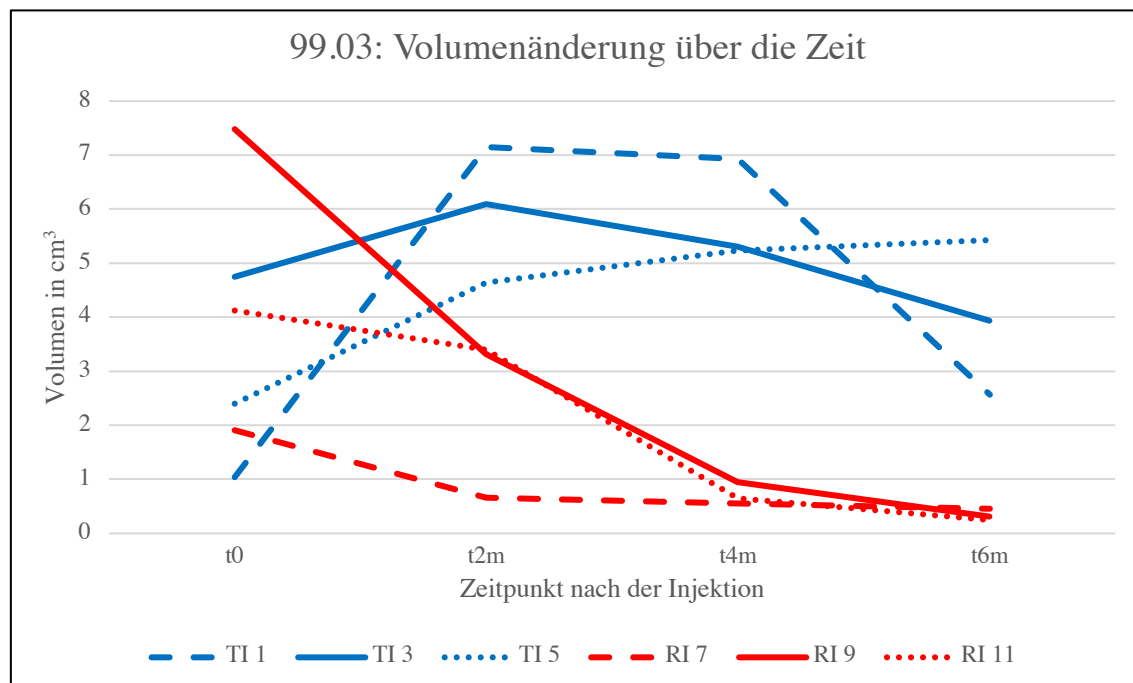


Abb. 4.6.9: Tier 99.03 Ergebnisse der Volumenberechnung (cm³) basierend auf den MRT-Messungen; t: Zeitpunkt; m: Monate, Inj.: Injektion

4.6.5 Histologie

Die histologischen Schnitte wurden hinsichtlich ihrer Biokompatibilität und der Reaktion des Gewebes auf das injizierte Material gemäss der ISO 10993-Part 6 Annex E (Third edition 01.12.2016) semi-quantitativ ausgewertet. Die angewendeten Kriterien wurden für die Anforderungen der Studie angepasst. Die folgenden Parameter wurden untersucht:

Infiltration von Entzündungszellen und Nekrose (Anhang Tab. 3), Neovaskularisation und Fibrose (Anhang Tab. 4) sowie Materialparameter und zusätzliche Beobachtungen (Anhang Tab. 5). Für die Beurteilung der Biokompatibilität sind die Entzündungsreaktion und Nekrose relevanter als die Neovaskularisation und Fibrose und wurden daher mit dem Faktor 2 multipliziert. Somit ergaben sich gewichtete Werte. Die Werte wurden addiert und der Durchschnittswert der Gewebereaktion (Biokompatibilität) für Test- und Referenz-Item berechnet (Tab. 4.6.8). Zur Bestimmung des Grads der Reaktion wurde der durchschnittliche Wert des Referenz-Items von dem des Test-Items subtrahiert (Tab. 4.6.8). Bei der Berechnung der Gewebereaktion wurden die Materialparameter und sonstige Beobachtungen nicht einbezogen und getrennt beschrieben. Von den einzelnen histologischen Schnitten wurden repräsentative Bilder gespeichert (Anhang Abb. 40-45)

Tab. 4.6.8: Durchschnittswerte der Gewebereaktion (Biokompatibilität) für TI und RI der histologischen Schnitte und Grad der Reaktion

	Test-Item (TI)		Referenz-Item (RI)		Grad der Reaktion
	Stern	Bolus	Stern	Bolus	
2 Monate (n=11)	26.7 (n=3)	25.0 (n=2)	15.0 (n=3)	14.7 (n=3)	moderat
4 Monate (n=7)	17.0 (n=3)	18.7 (n=3)	14.0 (n=1)	NA (n=0)	NA
6 Monate (n=35)	11.7 (n=9)	12.4 (n=8)	11.0 (n=9)	11.9 (n=9)	minimal

NA: Biopsie konnte nicht beurteilt werden, n= Nummer der auswertbaren Biopsien

4.6.5.1 Ergebnisse 2 Monate

2 Monate nach der Injektion waren die Durchschnittswerte für die zelluläre Reaktion und Entzündungs- sowie Gewebereaktion für das TI höher als für das RI, unabhängig von der Injektionsstelle und -form (Stern, Bolus). Bei den TI-Injektionen war bei 2 der 3 Tiere (99.02, 99.03) eine starke Entzündungsreaktion zu erkennen. Diese war durch eine gemischte zelluläre Infiltration und durch Nekrosen gekennzeichnet. Die Nekrosen traten in Verbindung mit der Bildung von Granulomen bei 1/2 (einer von zwei) auswertbaren Bolus-Injektionen und bei 2/3 sternförmigen Injektionen auf. 1/3 Bolus-Injektionen (99.03) konnte nicht ausgewertet werden. Bei den Biopsien der RI-Injektionen waren weder Entzündungszellen noch Nekrosen vorhanden. Es konnten lediglich zahlreiche

Makrophagen im Zusammenhang mit dem Umbauprozess gesehen werden. Bei den TI-Injektionen war der Gewebeumbau ausgeprägt mit einer moderaten Neubildung von Gefässen und einer moderat bis starken Fibrose. Bei den RI-Injektionen konnte eine minimale Fibrose und eine geringe bis moderate Neovaskularisation beobachtet werden. Die Durchschnittswerte für die zelluläre und entzündliche Reaktion, einschliesslich des Gewebeumbaus, für das TI waren höher als die des RI. Zwischen den Bolus- und Stern-Injektionen konnte kein eindeutiger Unterschied festgestellt werden. Der Grad der Gewebereaktion (Biokompatibilität) auf das TI war nach 2 Monaten moderat verglichen mit dem RI (10.3 für Bolus- und 11.7 für Stern-Injektionen) (Anhang Tab. 37, Tab. 38).

4.6.5.2 Ergebnisse 4 Monate

Nach 4 Monaten war die Entzündungsreaktion geringer ausgeprägt als nach 2 Monaten. In 2/3 Bolus-Injektionen (99.01, 99.03) und in 2/3 Stern-Injektionen (99.02, 99.03) wurden mit Granulomen assoziierte Nekrosen nachgewiesen. Es konnten bei TI-Injektionen aller Tiere Nekrosen in Verbindung mit einer Granulombildung festgestellt werden. Dies war in 2/3 Bolus-Injektionen (99.01, 99.03) und in 2/3 Stern-Injektionen (99.02, 99.03) der Fall. Es konnte lediglich eine Biopsie der RI-Injektionen beurteilt werden (Stern 99.03). In dieser RI-Biopsie waren keine Zeichen einer Entzündungsreaktion oder Nekrose erkennbar. Es waren nur reichlich Makrophagen verbunden mit dem Umbauprozess des Gewebes sichtbar. Der Umbau des Gewebes war bei den TI-Injektionen ausgeprägt mit einer moderaten bis starken Fibrose und Neubildung von Blutgefässen. Die eine auswertbare RI-Injektion hat eine minimale Fibrose und leichte Neovaskularisation gezeigt.

Nach 4 Monaten waren die Durchschnittswerte für die zelluläre und entzündliche Reaktion, einschliesslich des Gewebeumbaus, des TI geringer als nach 2 Monaten und es konnte kein Unterschied zwischen Stern- und Bolus-Injektionen gesehen werden. Diese Werte konnten lediglich mit einer RI-Probe verglichen werden, die einen leicht niedrigeren Wert aufwies. Aufgrund der fehlenden Werte für das RI konnte der Reaktionsgrad (Biokompatibilität) nicht bestimmt werden (Anhang Tab. 39, Tab. 40).

4.6.5.3 Ergebnisse 6 Monate

Zum Zeitpunkt 6 Monate nach der Injektion war bei den TI-Injektionen aller Tiere eine moderate Entzündungsreaktion zu sehen, welche durch eine gemischte zelluläre Infiltration und Nekrosen gekennzeichnet war. Nekrosen konnten ausschliesslich in

Verbindung mit einer Granulombildung bei 3/9 Bolus-Injektionen und 2/9 Stern-Injektionen beobachtet werden. Bei den RI-Injektionen waren auch nach 6 Monaten weiterhin keine Entzündungszellen und lediglich in Verbindung mit dem Umbauprozess zahlreiche Makrophagen sowie mehrkernige Riesenzellen vorhanden. Bei den TI-Injektionen waren der Gewebeumbau, Fibrose sowie Neubildung von Blutgefässen. Beim RI konnte besonders bei den Bolus-Injektionen eine geringe bis moderate Fibrose und eine minimale Neovaskularisation gesehen werden.

Die Durchschnittswerte für die zelluläre und entzündliche Reaktion, einschliesslich des Gewebeumbaus, für TI und RI waren unabhängig von der Injektionsform (Stern, Bolus) nahezu gleich. Der Reaktionsgrad (Biokompatibilität) für das TI war nach 6 Monaten minimal (Bolus 0.6, Stern 0.7) (Anhang Tab. 41, Tab. 42).

4.6.5.4 Weitere Beobachtungen/Materialparameter (2, 4 und 6 Monate):

Bei TI-Injektionen war an zahlreichen Lokalisationen und zu allen Zeitpunkten die Bildung von Granulomen sichtbar. Zusammengefasst waren Granulome an folgenden Injektionsstellen vorhanden: Nach 2 Monaten an 2/3 untersuchten Stern- und 1/2 Bolus-Injektionen, nach 4 Monaten an jeweils 2/3 untersuchten Stern- und Bolus-Injektionen und nach 6 Monaten an 2/9 untersuchten Stern- und 3/8 Bolus-Injektionen. Nekrosen mit leichter Mineralisation waren ausschliesslich in Verbindung mit einer Granulombildung zu sehen. In den weiteren TI-Proben (insgesamt 6/18) und in allen RI-Probe wurden weder Granulome noch Nekrosen festgestellt.

Nach 2 und 4 Monaten waren hohe und nach 6 Monaten noch immer moderate Mengen des injizierten Materials (RI und TI) vorhanden. Die Biodegradierung fand bei beiden Materialien überwiegend zellassoziiert statt. Dieser Prozess war durch eine hohe Anzahl an phagozytotischen Zellen (Makrophagen und Fremdkörperriesenzellen) gekennzeichnet. Unabhängig von der Injektionsstelle wurde das injizierte Material nach 6 Monaten weiterhin in moderaten Mengen gesehen. In diesen Bereichen war einwachsendes kollagenreiches Bindegewebe (Fibrose) angrenzend an das Material und dieses ersetzend vorhanden. Innerhalb der Granulome bei den TI-Injektionen wurde das injizierte Material weitgehend unverändert und in grösseren Mengen gefunden (Anhang Tab. 37-42).

4.6.6 Zusammenfassung der Komplikationen

Für die Übersicht der beobachteten Komplikationen wurde eine Tabelle erstellt, die darstellt, an welchen Injektionen Abszesse, Granulome und Kapseln vorhanden waren (Tab. 4.6.9). Zudem wurde für jede Injektion ein Diagramm angefertigt, das den zeitlichen Verlauf der Komplikationen zeigt (Anhang Abb. 46-82).

Die Bildung einer Kapsel um das injizierte Material herum wurde mittels Ultraschalluntersuchung bei allen TI-Injektionen für unterschiedlich lange Zeiträume (1-6 Monate) gesehen. Durchschnittlich konnten sie für 4.6 Monate bei den Bolus- und für 3.2 Monate bei den Stern-Injektionen beobachtet werden. Bei RI-Injektionen waren bei 3 Injektionen (2 Bolus, 1 Stern) für 1-2 Monate Kapseln vorhanden.

Eine Granulombildung wurde in 12 von 18 TI-Injektionen (6 Bolus, 6 Stern) und in keiner RI-Injektion festgestellt. Es konnte kein Unterschied in der Anzahl der Granulome zwischen den Bolus- und Sterninjektionen gesehen werden.

Abszesse entwickelten sich bei 4 TI-Injektionen (2 Bolus, 2 Stern) und keiner RI-Injektion. Die Anzahl der Abszesse von Bolus- und Stern-Injektionen hat sich nicht unterschieden. 3 der 4 Abszesse wurden in einem Schwein (99.03) beobachtet.

Von den 6 Injektionen, bei denen während der In-Life Phase keine Biopsie genommen wurde (99.01 & 99.03 Inj. 5 & 6; 99.02 Inj. 11), hatten 5 Injektionen eine Kapsel für 6 Monate und ein Granulom (Ausnahme 99.02 Inj. 12: Kapsel für 2 Monate, kein Granulom). Durchschnittlich war an den Injektionsstellen, an denen eine Biopsie genommen wurde, eine Kapsel für 3.3 Monate und an denen ohne Biopsie für 5.3 Monate (Tab. 4.6.9) vorhanden.

Tab. 4.6.9: Zusammenfassung der Komplikationen (Abszesse, Granulome und Kapselbildung)

Material	Injektionsform	Abszess	Granulom*	Kapsel (Ultraschall)
Test-Item	Stern	99.03-Inj. 2 99.03-Inj. 4	99.01-Inj. 6 99.02-Inj. 8 99.02-Inj. 10 99.03-Inj. 2 99.03-Inj. 4 99.03-Inj. 6	99.01-Inj. 2 (5 m) 99.01-Inj. 4 (2 m) 99.01-Inj. 6 (6 m) 99.02-Inj. 8 (2 m) 99.02-Inj. 10 (4 m) 99.02-Inj. 12 (2 m) 99.03-Inj. 2 (2 m) 99.03-Inj. 4 (2 m) 99.03-Inj. 6 (6 m)
Test-Item	Bolus	99.02-Inj. 9 99.03-Inj. 3	99.01-Inj. 3 99.01-Inj. 5 99.02-Inj. 7 99.02-Inj. 11 99.03-Inj. 3 99.03-Inj. 5	99.01-Inj. 1 (1 m) 99.01-Inj. 3 (5 m) 99.01-Inj. 5 (6 m) 99.02-Inj. 7 (4 m) 99.02-Inj. 9 (3 m) 99.02-Inj. 11 (6 m) 99.03-Inj. 1 (5 m) 99.03-Inj. 3 (5 m) 99.03-Inj. 5 (6 m)
Referenz-Item	Stern	/	/	99.01-Inj. 12 (2 m)
Referenz-Item	Bolus	/	/	99.02-Inj. 1 (1 m) 99.03-Inj. 11 (2 m)

Injektionsstellen ohne Biopsien blau markiert (Inj. 5, 6, 11 & 12), *In den histologischen Schnitten zu den Zeitpunkten 2, 4 oder 6 Monate nach der Injektion, m: Monat(e), Inj: Injektion, /: nicht vorhanden

5 Diskussion

Die vorliegende Studie befasst sich mit der Untersuchung eines neu entwickelten injizierbaren Soft tissue fillers, der zur Wiederherstellung des Brustgewebes nach einer Mastektomie eingesetzt werden soll. Die zurzeit verfügbaren Methoden zur Brustrekonstruktion sind alle mit Nachteilen verbunden. Klassische Brustimplantate müssen beispielsweise in der Regel nach 10-15 Jahren ersetzt werden⁴. Ausserdem kommt es bei der Rekonstruktion mit autologen Flaps zu einer Beeinträchtigung der Entnahmestelle und es kann zu einem Verlust des Flaps kommen⁷. Ein injizierbares Material wäre eine weniger invasive Methode, die ohne Anästhesie durchgeführt werden könnte. In der Literatur wird nur autologes Fettgewebe für die Anwendung im Bereich der Brust¹⁰ beschrieben, wobei jedoch ein unvorhersehbarer Teil des injizierten Fettes resorbiert wird⁸.

Aktuell gibt es demnach kein optimales Material zur Volumenaugmentation der weiblichen Brust. Daher wurde das in der Studie beschriebene Material für diesen Zweck untersucht. Es handelt sich dabei um eine minimalinvasive Methode, die eine Applikation grösserer Volumina ermöglicht und zu einer langanhaltenden Volumenauffüllung durch die Stimulation der Bildung körpereigenen Gewebes führen soll.

5.1 Tiermodell

Das Schwein wurde als Tiermodell für diese Studie ausgewählt, da es das Säugetier ist, dessen Haut der des Menschen am ähnlichsten ist⁹⁷. Schweine wurden bereits in verschiedenen Studien zur Untersuchung von Soft tissue fillern eingesetzt^{53,111-113}. Aufgrund der geringeren Körpergrösse und den damit verbundenen Vorteilen wurde die Studie mit Minipigs durchgeführt. Auch in der Literatur wird beschrieben, dass Minipigs als Tiermodell genutzt werden, um die Nachteile der Grösse und des Gewichtes domestizierter Schweine zu umgehen⁹⁷.

Generell scheinen Minipigs als Tiermodell für diese Studie gut geeignet gewesen zu sein. Das Trainieren war gut möglich und sie waren schnell zahm und zutraulich. Mit Hilfe des Klickertrainings konnte die tägliche Beurteilung der Injektionsstellen stressfrei und ohne Zwangsmassnahmen durchgeführt werden. Allerdings ist bei Schweinen grundsätzlich für viele Manipulationen ein intensives Training oder sogar eine Anästhesie notwendig. Die Ultraschalluntersuchung der Injektionsstellen war beispielsweise ausschliesslich in Anästhesie möglich. Bei kleineren Tierarten oder Spezies, die, wie z.B. der Hund, stärker an den menschlichen Umgang gewöhnt sind, wäre diese Manipulation vermutlich ohne

Anästhesie durchführbar. Bei Hunden bestehen allerdings häufig ethische Bedenken. Kleinere Tierarten haben, verglichen mit Schweinen, eine kürzere Lebenserwartung, wodurch sie bei längeren Versuchen, wie bei der durchgeführten Studie, weniger gut geeignet sein könnten. Dies wird auch in der Literatur als Argument für die Nutzung von Grosstieren anstelle von Nagern für längere Tests genannt¹⁰⁰. Auch Schafe könnten trotz ihrer Grösse leichter fixiert und untersucht werden. Diese haben jedoch im Gegensatz zu Schweinen lediglich 2 Mammakomplexe, sodass weniger Injektionen bei den einzelnen Tieren möglich wären. Bei Schweinen können aufgrund der hohen Anzahl der Mammakomplexe viele Injektionen bei einem Tier durchgeführt werden. Dadurch lässt sich die Anzahl der benötigten Tiere reduzieren. Es besteht allerdings die Frage, ob die 12 Injektionen einzeln bewertet werden können oder ob sie als eine Versuchseinheit gesehen werden müssen, da sie alle bei einem Tier vorgenommen wurden. Für eine statistische Auswertung der Ergebnisse müsste zunächst überprüft werden, ob die Injektionen sich gegenseitig beeinflussen können und ob die Reaktion auf das injizierte Material vom Individuum abhängig ist.

In der Literatur werden besondere Anforderungen für die Anästhesie und postoperative Phase von Minipigs genannt⁹⁷. In der beschriebenen Studie sind diese ohne Komplikationen verlaufen. Die gewählte Anästhesie scheint somit gut geeignet gewesen zu sein.

Die Schweine erhielten um die Zeitpunkte der Anästhesien prophylaktisch Omeprazol, um die Entstehung eines Magengeschwürs zu verhindern. Diese können unter anderem durch Stress, Angst, längere Zeiträume ohne Futter und Schmerzen gefördert werden¹⁰². Die prophylaktische Gabe scheint wirksam gewesen zu sein, da die Tiere zu keinem Zeitpunkt Probleme mit der Futteraufnahme oder Störungen des Allgemeinbefindens zeigten. Lediglich am Tag der Anästhesie war die Futteraufnahme teilweise etwas verringert, was als normal zu bewerten ist. Ausserdem waren keine Anzeichen von Schmerzen im Zusammenhang mit den Injektionen oder Biopsien erkennbar. Daraus lässt sich schliessen, dass die analgetische Medikation gut gewählt war.

Eine weitere Einschränkung von Schweinen als Tiermodell in dieser Studie ist die Tatsache, dass die Tiere auf ihrem Bauch und somit auch auf dem injizierten Material liegen. Dadurch sind die Druckverhältnisse auf die Injektionsstellen anders als bei der geplanten Anwendung beim Menschen, bei denen die Belastung der Injektionsbereiche durch vorherige Aufklärung vermieden werden kann. Dies könnte möglicherweise Einfluss auf die Volumenentwicklung gehabt haben. Zudem kann es durch die erhöhte

mechanische Belastung zu einer verstärkten Entzündungsreaktion gekommen sein. Die Auswirkung von mechanischen Effekten auf die Biokompatibilität wird auch in der Literatur erwähnt⁹⁵. Beispielsweise kann bei klassischen Brustimplantaten eine mechanische Reizung möglicherweise zu einer Fibrose führen²⁸. Bei der Injektion von Fettgewebe wird ebenfalls ein mechanischer Einfluss auf die Wirkung vermutet. Die Dauer des Effektes scheint in wenig mobileren Regionen grösser zu sein⁹. Die mechanische Belastung der Injektionen im Bereich der Milchleiste könnte somit auch beim TI möglicherweise zu einer Beeinflussung der Langlebigkeit geführt haben. Ein weiterer Punkt ist das erhöhte Infektionsrisiko, da die Bereiche der Injektionen mit Kot und Urin in Berührung gekommen sein könnten. Allerdings gilt das für beide, RI und TI. Da beim TI deutlich mehr Wundkomplikationen mit Vereiterung aufgetreten sind, kann deshalb davon ausgegangen werden, dass es nicht an der Umgebung, sondern eher am TI selbst lag.

Des Weiteren besteht die Frage, ob bei Minipigs eine Prädisposition für die Entwicklung von Granulomen besteht. Beispielsweise wurde in einer Studie mit Ratten und Sinclair Minipigs beiden Spezies ein injizierbarer Co-Polyester als zu testendes Material injiziert. Die Ratten zeigten keine Hinweise auf eine granulomatöse Reaktion. Bei den Schweinen wurde hingegen eine starke granulomatöse Entzündung als Reaktion auf das untersuchte Material festgestellt. Somit wurden in dieser Studie klare Unterschiede der Reaktion zweier verschiedener Spezies auf einen Soft tissue filler nachgewiesen¹⁰⁸.

Minipigs scheinen trotz der genannten Einschränkungen das Tiermodell der Wahl für die Haut und das subkutane Gewebe zu sein.

5.2 Operation

Da alle Injektionen wie geplant verlaufen sind, kann daraus geschlossen werden, dass das angewendete Verfahren für die Studie gut gewählt war. Bei einigen RI-Injektionen ist Material aus dem Bereich der Stichinzision ausgetreten. Da dies nur bei RI-Injektionen und nie bei TI-Injektionen beobachtet werden konnte, kann angenommen werden, dass dies nicht mit der Grösse der Stichinzision zusammenhing, die immer gleich war. Die Vermutung, dass das RI eine andere Konsistenz hatte als das TI und daher leichter austreten konnte, liegt nahe. Durch den Austritt befand sich das applizierte Volumen nicht mehr vollständig im subkutanen Gewebe. Es ist daher unklar, wie viel Material genau noch vorhanden war. Beim TI hingegen konnte sichergestellt werden, dass das gesamte injizierte Material im subkutanen Gewebe war.

5.3 In-Life Phase

Zu Beginn haben alle 3 Schweine deutlich zugenommen. Im Anschluss an die Futterreduktion haben die Tiere weniger zu- bzw. leicht abgenommen. Eine Kontrolle des Gewichtes und der Futtermenge ist von grosser Bedeutung, damit die Tiere nicht zu stark an Gewicht zu- oder abnehmen. Durch Gewichtsschwankungen können sich Auswirkungen auf die Darstellung in der MRT-Untersuchung und auch auf die Dosierung von Medikamenten ergeben. Auch die Druckverhältnisse auf die Injektionen steigen, wenn die Tiere deutlich zunehmen, was wiederum die Volumenentwicklung beeinflussen könnte.

5.3.1 Tägliche Überwachung der Tiere

Es gab keine TI oder RI bedingten Veränderungen der physiologischen Parameter. Zudem hatten beide Materialien lediglich lokale Auswirkungen auf den Körper. Daraus kann geschlossen werden, dass sowohl das TI als auch das RI keine systemischen Nebenwirkungen aufweisen. Alle TI und RI unabhängigen Auffälligkeiten (Zahnfraktur, Diarrhö, Hautnekrosen, leichte Schwanzverletzung) wurden erfolgreich behandelt.

5.3.2 Tägliche Beurteilung der Injektionsstellen

Die Beurteilung der Injektionsstellen war in der durchgeführten Art auf einem Hocker mit einem Spiegel gut möglich. Mit Hilfe dieser Methode konnten alle zu überprüfenden Parameter ohne Einschränkungen untersucht werden. Für die Beurteilung wurde ein spezielles Scoring-System verwendet. Die Einordnung in dieses System ist jedoch vom Untersucher abhängig. Daher ist es sinnvoll, dass die Untersuchung immer von der gleichen Person durchgeführt wird bzw. die Personen sich untereinander genau abstimmen.

5.3.3 Monatliche makroskopische Beurteilung und Dokumentation

Generell war die Konsistenz der Injektionen verglichen zum umliegenden Gewebe fester, was möglicherweise durch das injizierte Material selbst bedingt oder eine Reaktion des Körpers auf dieses sein könnte. Besonders das RI hat sich im Verlauf der Studie nicht mehr gut palpieren lassen. Das TI konnte bis zum Ende des Versuchs in den meisten Fällen besser im Gewebe lokalisiert werden. In seltenen Fällen konnte das Material nicht mehr palpiert werden. Die gleiche Beobachtung konnte auch bei den Ultraschall- und MRT-Untersuchungen gemacht werden.

An den Injektionsstellen wurden Komplikationen wie Abszesse, Austritt von Test-Item und Eiter festgestellt. Abszesse konnten ausschliesslich an TI- und nie an RI-Injektionen gesehen werden. Bei einigen ist neben Eiter auch TI ausgetreten. Abszesse können durch unterschiedliche Faktoren entstehen, wie z.B. aufgrund einer bakteriellen Infektion zum Zeitpunkt der Injektion. Da die Abszesse allerdings nur beim TI und zu unterschiedlichen Zeitpunkten gefunden wurden, kann vermutet werden, dass das TI selbst eine Entzündung, Kapselbildung und Abszessbildung gefördert hat. Auch die Biopsieentnahme könnte zum Eintragen von Bakterien geführt haben. Die meisten Abszesse sind jedoch bereits vor der Biopsie entstanden, sodass eine nachträgliche Infektion durch die Entnahme selbst oder über das Nahtmaterial unwahrscheinlich ist und die Abszesse eine Reaktion auf die Injektion des Testmaterials sind. Die Vermutung, dass das TI eine Reaktion auslöst, wird auch durch die Ergebnisse der histologischen Auswertung gestützt (siehe Punkt 5.6.5 Histologie).

Zusätzlich wurde eine Schwellung beobachtet, in der sich lediglich TI und kein Eiter angesammelt hatte. Eine mögliche Ursache dafür ist, dass die injizierte Menge zu gross war, um vom Körper abgebaut und mit neuem Gewebe durchwachsen zu werden. Zur Beseitigung des Fremdmaterials bzw. Abgrenzung vom Körper könnte eine Fremdkörperreaktion mit Abkapselung bzw. Absonderung stattgefunden haben. Diese klassische Fremdkörperreaktion mit Abgrenzung des Fremdmaterials vom normalen Gewebe durch eine fibröse Kapsel wird so in der Literatur beschrieben¹²⁰. Infolge dessen kann es zu einer Entzündungsreaktion mit der Bildung von nekrotischem Gewebe gekommen sein. Eventuell hat die mechanische Stimulation dadurch, dass die Schweine auf dem Bauch und somit auf den Bereichen der Injektionen liegen, zusätzlich zu der Reaktion des Körpers beigetragen. Wie bereits beschrieben, wird eine mechanische Reizung auch bei klassischen Brustimplantaten als mögliche Ursache für eine Fibrose vermutet²⁸.

An den Bereichen, wo nach einer Biopsie TI ausgetreten ist, besteht die Möglichkeit, dass durch die Biopsie keine intakte Haut, sondern dünneres Narbengewebe über dem Material lag, dass weniger widerstandsfähig war. Zusätzlich war an einer Biopsiestelle eitriges Sekret vorhanden. Diese Infektion könnte möglicherweise durch die Dochtwirkung des Nahtmaterials bedingt sein. Da die Tiere auf dem Bauch im Stroh und teilweise auch in Bereichen mit Kot oder Urin gelegen haben, können Bakterien leicht an den Wundbereich gelangt sein. Grundsätzlich wäre auch eine Infektion bei der Biopsieentnahme oder dem Verschliessen der Wunde möglich.

5.3.4 Biopsie

Die Biopsien konnten alle wie geplant entnommen werden. In manchen Fällen konnte das Material jedoch weder gefühlt noch mittels Ultraschall dargestellt werden. Daher war es in diesen Fällen schwer die richtige Stelle zu finden. Auch die Verwendung der Schablone bei den Stern-Injektionen zur Standardisierung und die fotografische Dokumentation haben die Lokalisation nicht immer möglich gemacht. Dieses Problem trat besonders bei der 2. Biopsieentnahme nach 4 Monaten auf. Dadurch kann nicht in jedem Fall mit Sicherheit gesagt werden, ob die Biopsie an der richtigen Stelle genommen wurde.

5.4 Bildgebung

5.4.1 Ultraschall

Grundsätzlich war es möglich, das injizierte Material an fast allen Injektionsstellen darzustellen. Allerdings wurde es mit der Zeit schwieriger, dieses bzw. die Gewebereaktion vom umliegenden Gewebe abzugrenzen. Dies lag vermutlich an der fortschreitenden Integration des Materials und war besonders beim Referenz-Item festzustellen. Zudem waren Gewebereaktionen wie z.B. Kapselbildung und Flüssigkeitsakkumulation zu sehen.

Das TI konnte vor allem zu späteren Zeitpunkten überwiegend deutlich besser vom umliegenden Gewebe differenziert werden als das RI. Bei einigen TI-Injektionen fand sich ausserdem ein anechogener Saum um das injizierte Material. Dadurch waren sie besonders gut zu differenzieren. Der anechogene Bereich stellte vermutlich eine Flüssigkeitsakkumulation dar, die das injizierte Material umgeben hat. Um die Flüssigkeit war eine Kapsel erkennbar, die wahrscheinlich verhindert hat, dass sich die Flüssigkeit im umliegenden Gewebe verteilte und resorbiert wurde. Wie bereits unter Punkt 5.3.3 makroskopische Beurteilung und Dokumentation beschrieben, wird die Abgrenzung vom Gewebe durch eine fibröse Kapsel auch in der Literatur erwähnt¹²⁰. Bei einigen dieser Injektionen war 1-2 Monate nach der Biopsie Gewebe in den Bereich des injizierten Materials eingewachsen. Die Kapsel sowie die Flüssigkeit waren teilweise oder vollständig verschwunden. Dies kann möglicherweise dadurch erklärt werden, dass durch die Biopsie die Kapsel eröffnet wurde und das Material für den Körper wieder zugänglich war. Dadurch hätte Gewebe in den Bereich einwachsen und das Material besser integriert werden können.

Das RI hat im Laufe der Zeit eine dem umliegenden Gewebe ähnliche Struktur entwickelt und war besonders gegen Ende der Studie schlecht von diesem abzugrenzen.

5.4.2 MRT

Direkt nach der Applikation war bei einigen TI-Injektionen ein hypointenser Bereich um das Material sichtbar. Es wäre denkbar, dass sich das Material bei oder nach der Injektion in 2 Phasen (fest und flüssig) separiert hat. Dabei könnte durch den Druck der Injektion die flüssige Komponente in das umliegende Gewebe verteilt worden und die feste Phase am Ort der Injektion geblieben sein. Durch den höheren Flüssigkeitsanteil liesse sich das hypointense Gewebe im Bereich um das Material erklären.

In den folgenden Untersuchungen nach 2 und 4 Monaten erschienen die TI-Injektionen oft geschichtet und waren zum Grossteil sehr gut erkennbar. Diese Schichtung ist wahrscheinlich ein Hinweis auf ein Granulom oder einen Abszess. In der Literatur wird für Granulome eine typische konzentrische Schichtung beschrieben¹²⁵. Auch bei den Sterninjektionen wurden zu diesen Zeitpunkten kleinere bolusartige Bereiche gesehen, die teilweise eine Schichtung aufwiesen. Dies sind vermutlich Bereiche, wo die Strahlen der Sterne zusammentreffen und sich Material angesammelt hat. Die Tatsache, dass sich die Injektionen in früheren Phasen noch sehr gut abgrenzen liessen, spricht für eine fehlende Integration in das benachbarte Gewebe. 6 Monate nach der Injektion war das TI dann kaum noch von Milchdrüsengewebe zu unterscheiden und nicht mehr gut abzugrenzen, was heisst, dass das Material zunehmend besser integriert wurde. Die kaudalen 1-2 Injektionen, von denen keine Biopsien genommen wurden, waren jedoch im MRT und wie in den Ultraschalluntersuchungen weiterhin so gut erkennbar und abzugrenzen wie nach 4 Monaten. Diese Beobachtung lässt den Schluss zu, dass die Biopsien möglicherweise den abgegrenzten Bereich mit dem injizierten Material eröffnet und für den Körper wieder zugänglich gemacht haben. Dadurch hätte das Material besser integriert werden können. Das TI liess sich im Allgemeinen bei allen Tieren deutlich besser erkennen als das RI.

Direkt nach der Injektion war das RI stark hypointens und gut abgrenzbar. Danach war es erst noch deutlich hypointens, in den späteren MRTs dann nur noch ggr. hypointens und wesentlich schwerer bis kaum noch zu erkennen. Dies wurde auch in den Ultraschalluntersuchungen und bei der Palpation festgestellt. Daraus kann geschlossen werden, dass das RI möglicherweise schneller und zu einem grösseren Ausmass integriert war als das TI und eine dem umliegenden Gewebe gleiche bzw. ähnliche Struktur

entwickelt hat. Sobald das Material vollständig integriert ist, lässt es sich weder palpieren noch mittels bildgebender Verfahren darstellen. In der Literatur werden ähnliche Beobachtungen für das RI beschrieben. Das injizierte Material liess sich mit der Zeit nicht mehr palpieren. Die Angaben, zu welchem Zeitpunkt eine Palpation nicht mehr möglich war, sind unterschiedlich^{44,70}. Zudem konnte in verschiedenen Studien injiziertes CaHA mittels MRT bzw. CT bei späteren Untersuchungen nicht immer oder nicht mehr dargestellt werden^{72,73}. Es liegt die Vermutung nahe, dass das injizierte Material vollständig resorbiert wurde⁷².

Auch bei den sternförmigen RI-Injektionen waren dort, wo die Strahlen zusammentreffen, häufig bolusartige Bereiche zu sehen. Es scheint, als hätte sich das Material in diesen Bereichen direkt nach der Injektion angesammelt. Im Gegensatz zum TI wurden diese Bereiche jedoch auch gut integriert.

5.5 Postmortale Untersuchungen

Im Anschluss an die Euthanasie wurden alle Injektionsbereiche vollständig entnommen und makroskopisch beurteilt. Bei 4 TI-Injektionsstellen fanden sich knotige Strukturen von cremig-pastöser Konsistenz, die abgekapselt erschienen. Dabei kann es sich um ein Abszess oder Granulom gehandelt haben. Diese Veränderungen wurden lediglich an Injektionsstellen gefunden, an denen zuvor keine Biopsie entnommen wurde. Auch dies ist ein möglicher Hinweis darauf, dass die Biopsie einen Einfluss auf die Integration des Materials gehabt haben könnte. Von den übrigen Injektionsstellen hatten manche eine festere Konsistenz zum Teil mit bindegewebigen Strängen. Dies kann möglicherweise durch die Stimulation der Bildung von Bindegewebe durch das injizierte Material bedingt sein, die als Ziel der Behandlung zu der gewünschten Volumenzunahme führen soll. Auch in der Literatur wird beschrieben, dass eine gewisse Fibrose bei der Auffüllung von Weichteilgewebe zu erwarten und am gewünschten Ergebnis beteiligt ist¹³⁷. Alle anderen Injektionen zeigten eine überwiegend dem umliegenden Gewebe entsprechende Konsistenz und Struktur. Das lässt darauf schliessen, dass das Material an diesen Stellen gut bzw. vollständig integriert wurde. Ob ein bleibender Effekt auf das Volumen erzielt werden konnte, ist bei diesen Injektionen unklar. Es könnte sich im Idealfall einerseits neues Gewebe gebildet haben, das identisch mit dem normalen Gewebe ist. Andererseits könnte das Material jedoch auch vollständig abgebaut worden sein, ohne zu einer Entwicklung neuen Gewebes und damit einer Volumenzunahme geführt zu haben.

Die Entnahme der kompletten Bereiche der Injektionen war gut geeignet, um sicher zu stellen, dass der Bereich des implantierten Materials in der Probe enthalten war.

5.6 Auswertung

5.6.1 Tägliche Beurteilung der Injektionsstellen

Im Allgemeinen wurden hauptsächlich Rötungen und Schwellungen der Injektionsstellen beobachtet. Die TI-Injektionen hatten im Vergleich zu den RI-Injektionen höhere Scores und die Abweichungen dauerten länger. Veränderungen der Parameter lokale Temperatur und Sekret wurden ausschliesslich beim TI gesehen. Dies spricht dafür, dass das TI eine stärkere und länger andauernde Reaktion des Körpers hervorgerufen hat als das RI. Die Veränderungen bei den RI-Injektionen traten hauptsächlich im Anschluss an die Injektion oder eine Biopsie auf. Daraus kann geschlossen werden, dass sie möglicherweise durch diese Prozeduren und nicht durch das injizierte Material selbst verursacht wurden. Zudem gab es an einer TI-Injektion Befunde, die bereits vor der Biopsie begonnen und danach angehalten haben. Diese Veränderungen wurden somit nicht durch die Biopsie ausgelöst, könnten jedoch durch die Manipulation länger angehalten haben. Auch das spricht für eine Reaktion auf das injizierte Material selbst.

5.6.2 Monatliche makroskopische Beurteilung und Dokumentation

Um den Verlauf des Volumens zu bestimmen, ist die Palpation als alleinige Methode nicht gut geeignet, da hierbei nur ein grober Eindruck entsteht, in der Regel nur eine zweidimensionale Messung möglich war und die Injektionen besonders zu späteren Zeitpunkten nicht immer gut palpiert werden konnten. Zudem änderten sich die Grössen unregelmässig und häufig ohne klaren Trend. Lediglich die Grössen 2 und 6 Monate nach der Injektion schienen eine Regelmässigkeit aufzuweisen. Die meisten TI-Injektionen waren zu Beginn grösser als die RI-Injektionen. Bei der letzten Messung waren die TI-Injektionen fast alle kleiner und bei den RI-Injektionen 7/9 grösser. Aufgrund der oben genannten Tatsachen liessen sich die Werte nur schwer deuten. In Kombination mit anderen Methoden der Grössen- bzw. Volumenbestimmung ist die Palpation jedoch eine gute und einfach durchzuführende Ergänzung.

5.6.3 Monatliche Ultraschalluntersuchung

Eine eindeutige Aussage über den Verlauf des Volumens ist anhand der Ultraschall-Messungen nicht möglich, da kein klarer Trend erkennbar ist. Das gleiche gilt auch für

den Einfluss der Biopsien auf das messbare Volumen beider Materialien. Da das injizierte Material zu späteren Zeitpunkten vor allem beim RI nicht immer gut darstellbar war, waren auch die Messungen teilweise schwierig durchzuführen. Für die Berechnung der Volumina wurde die Formel zur Volumenberechnung für tri-axiale Ellipsoide verwendet. Die Ergebnisse geben nur einen groben Eindruck, obwohl die im Ultraschall gesehene Form der Bolus-Injektionen dem tri-axialen Ellipsoid nahekam. Da der daraus resultierende Fehler bei der Berechnung bei allen Injektionen gleich ist, lassen sich die Werte möglicherweise dennoch vergleichen.

Die Ultraschalluntersuchung war einfach durchzuführen und ist nicht invasiv. Das injizierte Material liess sich zudem in der Regel schnell darstellen und messen. Zusätzlich konnten auch Reaktionen des Körpers auf das injizierte Material, wie eine Kapselbildung und/oder Flüssigkeitsakkumulation, sowie die fortschreitende Integration gesehen werden. Allerdings gibt es auch Einschränkungen bei dieser Methode. Es war beispielsweise nicht immer möglich, alle Injektionen zu lokalisieren, besonders mit fortschreitender Integration zu späteren Zeitpunkten. Somit war auch eine genaue Messung in diesen Fällen nicht einfach durchzuführen.

Diese Erkenntnisse sind überwiegend auch in der Literatur zu finden. Dort wird die Ultraschalluntersuchung als eine Methode zur Lokalisation und Mengenbestimmung von dermalen Füllmaterialien beschrieben¹³⁵. Des Weiteren ist es auch möglich, Hinweise auf Pathologien wie Fibrosen und Granulome zu erkennen¹³⁷. Es werden auch Nachteile in der Literatur beschrieben, wie beispielsweise das Fehlen von anatomischen Orientierungspunkten¹³⁹, was auch in der durchgeführten Studie zu den Schwierigkeiten bei der Lokalisation des injizierten Materials beigetragen haben könnte. Zudem ist die Ultraschalluntersuchung von der durchführenden Person abhängig¹³⁹. Diesem Problem wurde in der beschriebenen Studie begegnet, indem sämtliche Untersuchungen und Messungen von der gleichen Person durchgeführt wurden.

5.6.4 MRT

Die Messungen des Volumens der Injektionen waren teilweise schwierig. Direkt nach der Applikation war bei einigen TI-Injektionen, wie bereits in Punkt 5.4.2 MRT beschrieben, ein hypointenser Saum um das Material sichtbar. Durch diesen hypointensen Bereich war es schwierig, das Volumen der betroffenen Injektionsstellen zu messen, da nicht klar erkannt werden konnte, was zum injizierten Material gehörte und was zum umliegenden Gewebe. Zusätzlich konnten die kranialen und kaudalen Injektionen häufig nicht

vollständig dargestellt bzw. abgegrenzt werden. Somit waren die Ergebnisse für diese Injektionen unsicher, uneinheitlich und nicht zuverlässig. Die gleiche Problematik trat ebenso bei einzelnen anderen Injektionen auf. Auch im MRT konnte bei der Volumenentwicklung der injizierten Materialien kein klarer Trend gesehen werden. Zudem wurde auch kein offensichtlicher Einfluss der Biopsien auf das Volumen festgestellt.

Mit Hilfe des MRTs liess sich die Struktur des injizierten Materials gut darstellen. Ein Vergleich mit den vorherigen MRTs und der Lage der Injektionen in Bezug auf anatomische Strukturen hat das Auffinden des injizierten Materials erleichtert. Der Nutzen von anatomischen Orientierungspunkten zur Lokalisation und Identifizierung einer Migration des Materials wird auch in der Literatur beschrieben¹³⁹. Zudem waren teilweise eine Schichtung und Kapselbildung beim TI und direkt nach der Injektion eine Separierung in 2 Phasen sichtbar. Dies zeigt, dass im MRT auch die Gewebereaktion auf das Material beurteilt werden konnte. Auch in der Literatur wird die Möglichkeit erwähnt, mittels MRT Veränderungen im Gewebe zu erkennen und zu charakterisieren⁷². Die MRT-Untersuchung ist jedoch auch mit Nachteilen wie einer längeren Anästhesiedauer, einem höheren technischen Aufwand sowie höheren Kosten verbunden. Ähnliche Nachteile wie hohe Kosten und ein begrenzter Zugang werden auch in der Literatur genannt¹³⁸.

Bei einem Vergleich der 3 Methoden zur Volumenbestimmung (Palpation, Ultraschall, MRT) erscheint eine Kombination von mindestens 2 Methoden am sinnvollsten, da jede dieser Methoden Schwachpunkte hat, die aufgrund der gegenseitigen Ergänzung bei der Interpretation der Ergebnisse nicht mehr so deutlich ins Gewicht fallen. Die Palpation ist eine sehr einfache Methode, die schnell und ohne technischen Aufwand durchgeführt werden kann. Als alleinige Methode ist sie allerdings ungenau und es können nur zweidimensionale Grössen bestimmt werden. Die Ultraschalluntersuchung ist nicht-invasiv, einfach durchzuführen und technisch wenig aufwändig. Es sind dreidimensionale Messungen möglich, wenn in 2 Richtungen geschallt wird. Die Berechnungen bieten allerdings nur einen groben Überblick, da die Injektionen nicht vollständig die Form eines tri-axialen Ellipsoids haben. Das MRT ist eine sehr detailreiche Methode, die Injektionen darzustellen. Die Struktur des injizierten Materials, wie z.B. eine Schichtung, Kapselbildung oder auch die Separation in mehrere Phasen, kann gesehen werden. Zudem ist die Eindringtiefe deutlich grösser als bei der Ultraschalluntersuchung. Bei dieser Untersuchung handelt es sich jedoch um eine teure Methode, die einen höheren

technischen Aufwand und längere Anästhesie erforderlich macht. Zudem konnten besonders die kranialen und kaudalen Injektionen häufig nicht oder nicht vollständig dargestellt werden. Dieses Problem ist möglicherweise durch die besondere Anatomie des kranialen Thorax und des kaudalen Abdomens zu erklären. Bei der Lagerung auf dem Bauch liegen die kranialen und kaudalen Injektionen nicht in derselben Ebene wie die mittleren Injektionen. Die MRT-Untersuchung war daher, so wie sie durchgeführt wurde, weniger nützlich. Die Palpation und Ultraschalluntersuchung sind vom Untersucher abhängig. Bei der MRT-Untersuchung ist lediglich die Auswertung personenabhängig. In dieser Studie wurden die Untersuchungen und Auswertungen jeweils von der gleichen Person durchgeführt, sodass mögliche Fehler bei den Messungen an allen Injektionsstellen gleich und die Ergebnisse somit dennoch vergleichbar sind.

Bei allen 3 Methoden war es bei einigen Injektionen nicht möglich, das Material zu palpieren bzw. darzustellen. Mögliche Ursachen dafür sind eine vollständige Integration oder eine Migration des Materials. Am besten liessen sich die Injektionsstellen finden, wenn das Material nicht integriert und eingekapselt war. Ist es dagegen vollständig integriert, ist eine Darstellung weder mit Ultraschall noch mittels MRT möglich, da es sich wie normales Gewebe darstellt und anfühlt. Zudem ist das injizierte Volumen an sich in der Regel nicht sichtbar gewesen. Somit war auch keine Bestimmung des Volumens möglich.

5.6.5 Histologie

5.6.5.1 Ergebnisse 2 Monate

Die Tiere 99.02 und 99.03 wiesen eine starke Entzündungsreaktion bei den TI-Injektionen auf. Zudem konnte bei 1/2 auswertbaren Bolus-Injektionen und bei 2/3 Stern-Injektionen ein Granulom gesehen werden. Der Gewebeumbau war ausgeprägt mit einer moderaten Neovaskularisation und einer moderaten bis starken Fibrose. Diese Befunde sprechen für eine deutliche Reaktion des Körpers auf das implantierte Material. Fremdkörpergranulome entstehen aufgrund eines für den Körper nicht zu beseitigenden Fremdmaterials, das infolge dessen vom gesunden Gewebe abgegrenzt wird. Dieser Prozess wird auch in der Literatur beschrieben¹²⁴.

Bei den RI-Injektionen konnten weder Entzündungszellen noch Nekrosen gesehen werden. Es waren jedoch zahlreiche Makrophagen (Phagozyten) in Verbindung mit dem Umbauprozess vorhanden. Auch in anderen Studien wurde nach der Applikation des RIs

zunächst eine minimale Reaktion von Makrophagen festgestellt⁷¹. Diese Beobachtungen zeigen eine normale und zu erwartende Fremdkörperreaktion des Körpers, die durch körperfremdes Material ausgelöst wird. Denn auch bei der Implantation eines biokompatiblen Materials wird eine leichte Entzündungsreaktion mit einer ggr. Fibrose erwartet⁹⁵.

Unabhängig von der Injektionsform (Stern, Bolus) und -stelle waren die durchschnittlichen Werte für die zelluläre Reaktion und Entzündungs- sowie Gewebereaktion nach 2 Monaten für das TI höher als für das RI. Der Grad der Reaktion des TIs war im Vergleich zum RI moderat.

Die Gesamtheit der Ergebnisse nach 2 Monaten spricht dafür, dass das RI verglichen zum TI eine geringere Fremdkörperreaktion ausgelöst hat, bzw. das Fremdmaterial schneller durch phagozytierende Zellen degradiert werden konnte.

5.6.5.2 Ergebnisse 4 Monate

Die Entzündungsreaktion war nach 4 Monaten geringer ausgeprägt als bei den vorherigen Biopsien. Es konnten jedoch bei allen Tieren an TI-Injektionen Granulome gesehen werden. Diese waren in 2/3 Bolus-Injektionen (99.01, 99.03) und in 2/3 Stern-Injektionen (99.02, 99.03) vorhanden. Die TI-Injektionen zeigten zudem einen ausgeprägten Umbau des Gewebes mit einer moderaten bis starken Neovaskularisation und Fibrose. Auch 4 Monate nach der Injektion sprechen diese Ergebnisse für eine ausgeprägte Reaktion auf das TI.

Bei den RI-Injektionen war nur bei einer von 6 untersuchten Biopsien das Fremdmaterial mit einer Gewebereaktion erkennbar. Diese eine Biopsie zeigte keine Zeichen einer Entzündungsreaktion oder Nekrose. Es waren lediglich in Verbindung mit dem Umbauprozess zahlreiche Makrophagen vorhanden. Des Weiteren konnten eine minimale Fibrose und leichte Neovaskularisation gesehen werden. Ähnliche Ergebnisse konnten auch in einer anderen Studie beobachtet werden, bei der durch die CaHA-Partikel eine fibröse Reaktion ausgelöst wurde⁷¹. Die Beurteilung des RIs war aufgrund der fehlenden Auswertbarkeit der meisten Proben nur stark eingeschränkt möglich. Die eine beurteilbare Biopsie legt allerdings die Vermutung nahe, dass es sich weiterhin um eine Fremdkörperreaktion in normalem Ausmass handelt.

Die durchschnittlichen Werte für die zelluläre und entzündliche Reaktion des TIs waren für Bolus- und Stern-Injektionen ähnlich und insgesamt geringer als nach 2 Monaten. Die sinkenden Durchschnittswerte sprechen dafür, dass die Reaktion des Körpers auf das TI

mit der Zeit weniger ausgeprägt ist als 2 Monate nach der Injektion. Die eine RI-Probe, die ausgewertet werden konnte, hatte im Vergleich einen etwas geringeren Wert. Der Reaktionsgrad konnte durch die fehlenden Werte für das RI nicht bestimmt werden. Eine sichere Aussage über die Reaktion des Körpers auf das RI 4 Monate nach der Injektion ist somit nicht möglich.

5.6.5.3 Ergebnisse 6 Monate

6 Monate nach der Applikation war die Entzündungsreaktion der TI-Injektionen bei allen Tieren moderat. Es konnten bei 3/9 Bolus-Injektionen und 2/9 Stern-Injektionen Granulome gesehen werden. Der Gewebeumbau war moderat mit moderater Fibrose und Neovaskularisation. Die Reaktion des Körpers war 6 Monate nach der Injektion weniger ausgeprägt als bei den vorherigen Monaten. Granulome wurden jedoch weiterhin festgestellt. Der Körper scheint an diesen Injektionsstellen auch nach 6 Monaten nicht in der Lage gewesen zu sein, das injizierte Material zu integrieren oder abzubauen. An allen Injektionsstellen, an denen bereits eine Biopsie genommen wurde und nach 2 oder 4 Monaten ein Granulom vorhanden war, konnte dieses zum Zeitpunkt der Euthanasie nach 6 Monaten nicht mehr gesehen werden. Auch dies spricht für die bereits genannte Vermutung, dass die Biopsie das Granulom, bzw. dessen Kapsel eröffnet und das Material somit wieder für den Körper zugänglich gemacht hat, sodass Zellen in diesen Bereich einwachsen konnten. Zusätzlich wurden bei jeder Biopsie auch Materialreste entnommen, wodurch die Menge des Materials verringert wurde. Dadurch könnte die Integration des Materials erleichtert gewesen sein. Auch bei den sternförmigen Injektionen konnten Granulome beobachtet werden. Diese sind möglicherweise in den Bereichen entstanden, wo sich die Strahlen getroffen haben und sich das Material akkumuliert hat. Daraus kann geschlossen werden, dass das Risiko für die Bildung eines Granuloms oder einer Kapsel steigt, wenn das Material in dicken Schichten bzw. grösseren Mengen vorhanden ist. Ein Ungleichgewicht zwischen dem Abbau des Materials durch Makrophagen sowie Fremdkörperriesenzellen und dem Einwachsen von Fibroblasten und Blutgefässen wäre in diesen Bereichen denkbar.

Beim RI waren auch nach 6 Monaten lediglich zahlreiche Makrophagen im Zusammenhang mit dem Umbauprozess und mehrkernige Riesenzellen vorhanden. Entzündungszellen konnten nicht gesehen werden. Besonders bei den Bolus-Injektionen, wo die Menge des injizierten Materials gross war, wurde eine geringe bis moderate Fibrose mit minimaler Neubildung von Blutgefässen nachgewiesen. In einer Studie von

Lemperle *et. al.* konnte ebenfalls eine Bildung von fibrösem Gewebe 6 Monate nach der Injektion von CaHA gesehen werden⁴⁴. Auch 6 Monate nach der Implantation des Materials konnte somit weiterhin eine normale Fremdkörperreaktion beobachtet werden. Die durchschnittlichen Werte für die zelluläre und entzündliche Reaktion waren unabhängig von der Form der Injektion (Bolus, Stern) für TI und RI nahezu gleich. Der Reaktionsgrad (Biokompatibilität) für das TI war minimal (Bolus 0.6, Stern 0.7). Diese Ergebnisse sprechen dafür, dass sich die Biokompatibilität und der Grad der Entzündungsreaktion der TI-Injektionen im Laufe der Zeit verbessert und den RI-Injektionen angenähert haben. Allerdings wurden die Granulome in dieser Berechnung nicht berücksichtigt und müssen bei der Beurteilung der Biokompatibilität gesondert mit einbezogen werden, da sie ein Zeichen dafür sind, dass der Körper das Material nicht beseitigen konnte¹²⁴.

5.6.5.4 Weitere Beobachtungen/Materialparameter (2, 4 und 6 Monate):

Reste des injizierten Materials waren nach 2 Monaten bei allen Biopsien und 4 Monate nach der Applikation bei allen TI- und einer RI-Biopsie in grossen Mengen vorhanden. Bei beiden Materialien fand der Abbau hauptsächlich zellassoziiert statt. Dies lässt sich durch die hohe Anzahl an phagozytotischen Zellen (Makrophagen und Fremdkörperriesenzellen) erkennen. 6 Monate nach der Injektion waren weiterhin Reste beider Materialien in moderaten Mengen vorhanden. Diese Tatsache spricht für einen langsamen Abbau des Materials, wodurch der Volumeneffekt möglicherweise ebenso lange erhalten bleiben könnte. In den Bereichen, wo noch Materialreste vorhanden waren, konnte eine progressive Segmentierung und der Ersatz des Materials durch einwachsendes kollagenreiches Bindegewebe beobachtet werden. Dies zeigt, dass die injizierten Materialien zu einer Stimulation der Kollagenproduktion führen, die für die gewünschte Volumenzunahme verantwortlich gemacht wird.

Die Angaben des Herstellers zum Abbau des RIs sind widersprüchlich. Zunächst erklärt er, dass das Calcium Hydroxylapatit nach der Injektion am Ort der Injektion bleibt. Danach beschreibt er die Wirkung des RIs als langandauernd, aber nicht permanent¹⁴⁰. In der durchgeführten Studie wurden bei der histologischen Untersuchung Partikel des RIs innerhalb von Fremdkörperriesenzellen gefunden und die Anzahl der sichtbaren Partikel wurde mit der Zeit geringer. Daher kann eine Resorption des Calcium Hydroxylapatits vermutet werden. Auch in der Literatur wird eine Resorption der CaHA-Partikel beschrieben^{44,72}.

Bei den TI-Injektionen wurde das injizierte Material in grösseren Mengen und nahezu unverändert innerhalb der Granulome gefunden. Diese bestanden aus Nekrosen und Kalzifikationen im Zentrum, Entzündungszellen darum und einer fibrösen Kapsel aussen. Wie bereits beschrieben ist es das Ziel eines Granuloms, Material, das vom Körper nicht abgebaut werden kann, vom gesunden Gewebe abzugrenzen¹²⁴. Damit ist dieses vom Körper nicht mehr zu erreichen und bleibt über längere Zeit unverändert.

Granulome konnten zu allen Zeitpunkten an einigen TI- aber nie an RI-Injektionen gesehen werden. Daraus lässt sich schliessen, dass das TI für den Körper schwerer abzubauen war und eine stärker ausgeprägte Fremdkörperreaktion ausgelöst hat als das RI. Um eine bakterielle Besiedelung als Ursache für die Granulome auszuschliessen, wurde zusätzlich eine Brown-Brenn Färbung eines Granuloms angefertigt. Mittels spezieller Färbung und morphologisch zeigten sich keinerlei Hinweise auf Bakterien. Somit kann eine grundsätzliche bakterielle Infektion als Ursache für die Granulome der TI-Injektionen ausgeschlossen werden.

Die histologische Untersuchung war als Methode zur Evaluation der Biokompatibilität gut geeignet. Die Implantation mit anschliessender mikroskopischer Beurteilung wird auch in der Literatur für die präklinische Untersuchung von Medizinprodukten beschrieben¹³¹. Bei einigen RI-Injektionen konnten die Biopsien (vor allem nach 4 Monaten) nicht ausgewertet werden, da weder Material noch eine Reaktion des Gewebes erkennbar war. In einigen Fällen war es schwierig, die richtige Stelle für die Biopsie zu finden, da das Material weder gefühlt noch mit Hilfe der Ultraschalluntersuchung dargestellt werden konnte. Auch die Verwendung einer Schablone für die Stern-Injektionen und die fotografische Dokumentation im Anschluss an die Injektionen hat dabei nicht geholfen. Mögliche Ursachen dafür sind die vollständige Integration des Materials, eine Migration in die Peripherie oder die Entnahme an einer falschen Stelle. Die kleine Grösse der Biopsien hat dieses Problem noch verstärkt. Somit kann nicht mit Sicherheit gesagt werden, ob die Biopsie an der richtigen Stelle entnommen wurde.

5.6.6 Zusammenfassung der Komplikationen

Bei 4 TI-Injektionen (2 Bolus, 2 Stern) haben sich Abszesse entwickelt, ihre Anzahl war bei Bolus- und Stern-Injektionen gleich. Sie sind ausschliesslich bei TI- und nie bei RI-Injektionen aufgetreten. 3 von den 4 Abszessen waren bei einem Schwein (99.03) zu finden.

Bei allen TI-Injektionen konnte für unterschiedlich lange Zeiträume (1-6 Monate) eine Kapsel um das injizierte Material gesehen werden. Bei den Bolus-Injektionen war sie durchschnittlich für 4.6 Monate und bei den Stern-Injektionen für 3.2 Monate sichtbar. Bei RI-Injektionen waren lediglich bei 3 Injektionen (2 Bolus, 1 Stern) und nur für 1-2 Monate Kapseln vorhanden. Diese Beobachtung spricht dafür, dass der Körper beim RI besser in der Lage war, das Material abzubauen bzw. zu integrieren als beim TI. Das TI wurde vermutlich eingekapselt, um es vom gesunden Gewebe abzugrenzen, da es nicht möglich war, dieses zu beseitigen oder zu integrieren. Dafür spricht auch die Tatsache, dass in 12 von 18 TI-Injektionen (6 Bolus, 6 Stern) ein Granulom diagnostiziert werden konnte. Die Anzahl der Granulome bei den Bolus- und Stern-Injektionen war identisch. Bei den RI-Injektionen waren keine Granulome erkennbar.

Wenn bei TI-Injektionsstellen eine Kapsel in der Ultraschalluntersuchung diagnostiziert wurde, waren bei einem Grossteil dieser Injektionen auch die typischen Zeichen eines Granuloms in der histologischen Untersuchung erkennbar. 1-2 Monate nach der Biopsieentnahme, schien Gewebe bei einigen der eingekapselten Injektionen in diesen Bereich eingewachsen und die Kapsel teilweise oder vollständig verschwunden zu sein. Auch bei allen Injektionsstellen, an denen bei der Biopsie ein Granulom diagnostiziert wurde, konnte dieses in der histologischen Untersuchung zum Zeitpunkt der Euthanasie nicht mehr nachgewiesen werden. Zudem hatten 5 von den 6 Biopsien, bei denen während der In-Life Phase keine Biopsie genommen wurde (99.01 & 99.03 Inj. 5 & 6; 99.02 Inj. 11), eine Kapsel für 6 Monate und ein Granulom zum Zeitpunkt der Gewebeentnahme nach der Euthanasie (Ausnahme 99.02 Inj. 12: Kapsel für 2 Monate, kein Granulom). Durchschnittlich war an den Injektionsstellen, an denen eine Biopsie genommen wurde, eine Kapsel für 3.3 Monate und an denen ohne Biopsie für 5.3 Monate. Diese Befunde sprechen dafür, dass die Biopsie einen Einfluss auf die eingekapselten Injektionen bzw. Granulome hat. Wie bereits mehrfach beschrieben kann vermutet werden, dass die Biopsieentnahme die Kapsel eröffnet hat und somit das injizierte Material dem Körper wieder zugänglich war. Daraufhin konnten Zellen in diesen Bereich einwachsen und das Material degradiert und integriert werden. Hieraus ergibt sich die Frage, ob Injektionsstellen, an denen bereits eine Biopsie genommen wurde, für weitere Beurteilungen herangezogen werden können. Es lässt sich nicht sicher feststellen, ob die Biopsie oder eine Reaktion des Körpers für die Auflösung der Kapsel bzw. des Granuloms und die anschliessende Integration des Materials verantwortlich war. Eine weitere Einschränkung für die Beurteilung der Injektionsstellen nach einer Biopsie ist die

Tatsache, dass bei der Biopsie immer auch ein Teil des injizierten Materials entnommen wurde. Dies könnte zusätzlich zu einer verbesserten Integration des verbleibenden Materials geführt haben. Zudem ist dadurch auch die Volumenbestimmung dieser Injektionsstellen nicht zuverlässig.

Auch bei den sternförmigen Injektionen, bei denen weniger Material an einer Stelle injiziert wurde, konnten Granulome und Kapseln gesehen werden. Diese entstanden möglicherweise in den Bereichen, wo die einzelnen Strahlen zusammengetroffen sind, da sich dort das Material in bolusartigen Bereichen akkumuliert zu haben schien. Daraus kann geschlossen werden, dass das Risiko der Granulom- bzw. Kapselbildung mit der Menge des injizierten Materials steigt. Dies könnte durch ein Ungleichgewicht im Abbau des Materials und dem Einwachsen von Zellen und Blutgefässen begründet sein.

5.7 Statistische Analyse

Für eine statistische Auswertung der Ergebnisse wäre die Anzahl der untersuchten Tiere zu erhöhen.

5.8 Schlussfolgerung und Perspektiven

Bezüglich des Tiermodells gibt es wie bereits beschrieben noch einige Einschränkungen. Es wäre grundsätzlich möglich eine andere Spezies als Tiermodell zu verwenden. Allerdings gibt es keine optimale Alternative und das Schwein ist allgemein als Tiermodell für die menschliche Haut und das subkutane Gewebe anerkannt. Eine weitere Option wäre die Injektion in einen anderen Bereich mit geringeren Druckeinwirkungen. Schweine haben jedoch generell eine straffe Haut und die geplante Anwendung liegt zudem im Bereich des Brustgewebes. Das Schwein bleibt somit das Modell der Wahl. Die ideale Lokalisation muss allerdings erst noch gefunden werden. Zudem sollte eine mögliche Prädisposition für eine granulomatöse Entzündung als Reaktion auf ein implantiertes Material weiter untersucht werden.

Die Injektion des TI konnte wie geplant durchgeführt werden. Bei RI kam es jedoch bei einigen Injektionen zum Austritt des injizierten Materials. Eine Möglichkeit, dieses Problem zu verhindern, wäre z.B. eine grössere Höhle im subkutanen Gewebe herzustellen, in der sich das injizierte Material verteilen kann und wodurch der Druck auf das Material reduziert wird. Eine andere Option ist die Applikation geringerer Volumina, da somit der Druck im subkutanen Gewebe geringer wäre. Dennoch würde durch das

Körpergewicht der Tiere, wenn sie auf dem Bauch liegen, weiterhin Druck auf die Injektionen einwirken.

Die richtige Stelle zur Entnahme der Biopsien war trotz verwendeter Schablone und der Fotodokumentation nicht immer einfach zu finden. Um dies zu erleichtern, könnte beispielsweise die Injektionsstelle mit einer Tätowierung markiert werden. Auf diese Weise wäre der Injektionsbereich sicher zu identifizieren. Eine Dislokation des Materials ist jedoch weiterhin nicht auszuschliessen, sodass in diesem Fall auch bei einer Biopsie an der entsprechenden Stelle kein Material gefunden werden könnte. Eine weitere Möglichkeit wäre, das TI zu markieren, sodass es mittels Ultraschall dargestellt werden könnte. Dadurch könnte das Material auch bei einer Dislokation lokalisiert werden. Allerdings müsste zunächst ein Material gefunden werden, das im Ultraschall sichtbar ist. Ausserdem könnte es zu einer Beeinflussung der Biokompatibilität kommen. Es wäre zudem möglich, zu jedem Zeitpunkt einer geplanten Biopsie die gesamte Injektionsstelle zu entnehmen. Dadurch wird die Wahrscheinlichkeit erhöht, dass das injizierte Material in der gewonnenen Probe enthalten ist. Diese Methode wäre allerdings sehr invasiv und es könnte durch den grösseren Eingriff vermehrt zu Wundheilungsstörungen kommen. Zudem ist fraglich, ob die stärkere Belastung des Einzeltieres bei einer Entnahme von jeweils 4 Injektionsstellen nach 2 und 4 Monaten vertretbar ist. Daher wären möglicherweise mehr Tiere für die gleiche Anzahl an untersuchten Injektionen nötig. Eine weitere Einschränkung wäre die Tatsache, dass eine weitere Beurteilung der entnommenen Injektionen zu einem späteren Zeitpunkt nicht mehr möglich wäre.

Mit den durchgeführten Methoden zur Volumenmessung kann keine eindeutige Aussage über den Volumenverlauf getroffen werden. Die MRT-Untersuchung ist durch die detailreiche Darstellung des Materials und der Umgebung grundsätzlich eine gute Methode zur Beurteilung des TIs. Es konnten jedoch häufig nicht alle Injektionen vollständig abgebildet werden. Eine mögliche Ursache dafür ist, dass aufgrund der anatomischen Struktur die kranialen und kaudalen Injektionen nicht in derselben Ebene liegen wie die mittleren. Um dieses Problem zu beheben, wäre es möglich, die einzelnen Injektionsstellen näher beieinander zu positionieren. Somit wäre es leichter, alle Injektionen mittels MRT darzustellen.

In der für diese Studie verwendeten Form sollte das TI nicht angewendet werden, da es zu einer deutlichen Fremdkörperreaktion mit Granulom- und Kapselbildung geführt hat. Eine Möglichkeit zur Verbesserung der Integration des TIs wäre, das Material ausschliesslich in geringen Mengen und dünnen Schichten zu injizieren, da das Risiko für

die Entstehung von Granulomen mit der Dicke des injizierten Materials zu steigen scheint. Daher ist eine vollständige Rekonstruktion der weiblichen Brust mit dem TI in der angewendeten Form nicht möglich. Eine Korrektur kleinerer Defekte, wie beispielsweise von Narben oder nach Traumata, könnte durch die Injektion geringer Mengen jedoch möglich sein. Eine weitere Option ist die Mischung des TIs mit autologen Adipozyten, um die Biokompatibilität zu verbessern. Auf diese Weise wäre auch die Applikation etwas grösserer Volumina möglich.

6 Literaturverzeichnis

1. Ahmed S, Snelling A, Bains M, et al: Breast reconstruction. *BMJ* 330:943-948, 2005.
2. Lee GK, Sheckter CC: Breast Reconstruction Following Breast Cancer Treatment-2018. *JAMA* 320:1277-1278, 2018.
3. FDA: <https://www.fda.gov/medical-devices/breast-implants/risks-and-complications-breast-implants>, letzter Zugriff 23.04.2020.
4. O'Halloran N, Potter S, Kerin M, et al: Recent Advances and Future Directions in Postmastectomy Breast Reconstruction. *Clin Breast Cancer* 18:e571-e585, 2018.
5. Gerber B, Marx M, Untch M, et al: Breast Reconstruction Following Cancer Treatment. *Dtsch Arztebl Int* 112:593-600, 2015.
6. Schmauss D, Machens HG, Harder Y: Breast Reconstruction after Mastectomy. *Front Surg* 2:71, 2015.
7. Critchley AC, Thompson AM, Chan HY, et al: Current controversies in breast cancer surgery. *Clin Oncol (R Coll Radiol)* 25:101-108, 2013.
8. Homicz MR, Watson D: Review of injectable materials for soft tissue augmentation. *Facial Plast Surg* 20:21-29, 2004.
9. Alam M, Gladstone H, Kramer EM, et al: ASDS guidelines of care: injectable fillers. *Dermatol Surg* 34 Suppl 1:115-148, 2008.
10. Krastev TK, Alshaikh GAH, Hommes J, et al: Efficacy of autologous fat transfer for the correction of contour deformities in the breast: A systematic review and meta-analysis. *J Plast Reconstr Aesthet Surg* 71:1392-1409, 2018.
11. Rietjens M, De Lorenzi F, Rossetto F, et al: Safety of fat grafting in secondary breast reconstruction after cancer. *J Plast Reconstr Aesthet Surg* 64:477-483, 2011.
12. Largo RD, Tchang LA, Mele V, et al: Efficacy, safety and complications of autologous fat grafting to healthy breast tissue: a systematic review. *J Plast Reconstr Aesthet Surg* 67:437-448, 2014.
13. Rhee SM, You HJ, Han SK: Injectable tissue-engineered soft tissue for tissue augmentation. *J Korean Med Sci* 29 Suppl 3:S170-175, 2014.
14. Lin DJ, Wong TT, Ciavarra GA, et al: Adventures and Misadventures in Plastic Surgery and Soft-Tissue Implants. *Radiographics* 37:2145-2163, 2017.
15. Claes KE, Roche NA, Opsomer D, et al: Free flaps for lower limb soft tissue reconstruction in children: Systematic review. *J Plast Reconstr Aesthet Surg* 72:711-728, 2019.
16. Germann G, Bickert B, Steinau HU, et al: Versatility and reliability of combined flaps of the subscapular system. *Plast Reconstr Surg* 103:1386-1399, 1999.
17. Serra MS, Goncalves LZ, Ramos-e-Silva M: Soft tissue augmentation with PMMA-microspheres for the treatment of HIV-associated buttock lipodystrophy. *Int J STD AIDS* 26:279-284, 2015.
18. Lehnhardt M, Sogorski A, Wallner C, et al: Soft tissue sarcomas: limb salvage using reconstructive plastic surgery techniques. *Chirurg* 90:94-101, 2019.
19. Patel SY, Meram AT, Kim DD: Soft Tissue Reconstruction for Head and Neck Ablative Defects. *Oral Maxillofac Surg Clin North Am* 31:39-68, 2019.
20. Smith HG, Tzanis D, Messiou C, et al: The management of soft tissue tumours of the abdominal wall. *Eur J Surg Oncol* 43:1647-1655, 2017.
21. Grieco MP, Simonacci F, Bertozzi N, et al: Breast reconstruction with breast implants. *Acta Biomed* 89:457-462, 2019.
22. Al-Ghazal SK, Fallowfield L, Blamey RW: Comparison of psychological aspects and patient satisfaction following breast conserving surgery, simple mastectomy and breast reconstruction. *Eur J Cancer* 36:1938-1943, 2000.

23. American Society for Aesthetic Plastic Surgery: <https://www.surgery.org/sites/default/files/2014-Stats.pdf>, letzter Zugriff 23.04.2020.
24. Reichenberger MA, Biedermann N, Germann G: Aesthetic breast augmentation. *Chirurg* 82:782-788, 2011.
25. Chatterjee A: Long term effects of modern breast cancer surgery. *Gland Surg* 7:366-370, 2018.
26. O'Shaughnessy K: Evolution and update on current devices for prosthetic breast reconstruction. *Gland Surg* 4:97-110, 2015.
27. Chao AH, Garza R, 3rd, Povoski SP: A review of the use of silicone implants in breast surgery. *Expert Rev Med Devices* 13:143-156, 2016.
28. Williams DF: On the mechanisms of biocompatibility. *Biomaterials* 29:2941-2953, 2008.
29. Drucker-Zertuche M, Robles-Vidal C: A 7 year experience with immediate breast reconstruction after skin sparing mastectomy for cancer. *Eur J Surg Oncol* 33:140-146, 2007.
30. Cordeiro PG, McCarthy CM: A single surgeon's 12-year experience with tissue expander/implant breast reconstruction: part II. An analysis of long-term complications, aesthetic outcomes, and patient satisfaction. *Plast Reconstr Surg* 118:832-839, 2006.
31. Holmes JD: Capsular contracture after breast reconstruction with tissue expansion. *Br J Plast Surg* 42:591-594, 1989.
32. Farhangkhoei H, Matros E, Disa J: Trends and concepts in post-mastectomy breast reconstruction. *J Surg Oncol* 113:891-894, 2016.
33. Nahabedian MY: Innovations and advancements with prosthetic breast reconstruction. *Breast J* 24:586-591, 2018.
34. Kaartinen I, Sunela K, Alanko J, et al: Breast implant-associated anaplastic large cell lymphoma - From diagnosis to treatment. *Eur J Surg Oncol* 43:1385-1392, 2017.
35. Sood R, Easow JM, Konopka G, et al: Latissimus Dorsi Flap in Breast Reconstruction: Recent Innovations in the Workhorse Flap. *Cancer Control* 25:1073274817744638, 2018.
36. Geddes CR, Morris SF, Neligan PC: Perforator flaps: evolution, classification, and applications. *Ann Plast Surg* 50:90-99, 2003.
37. Germann G, Steinau HU: Breast reconstruction with the extended latissimus dorsi flap. *Plast Reconstr Surg* 97:519-526, 1996.
38. Granzow JW, Levine JL, Chiu ES, et al: Breast reconstruction with perforator flaps. *Plast Reconstr Surg* 120:1-12, 2007.
39. Clough KB, O'Donoghue JM, Fitoussi AD, et al: Prospective evaluation of late cosmetic results following breast reconstruction: II. Tram flap reconstruction. *Plast Reconstr Surg* 107:1710-1716, 2001.
40. Panchal H, Matros E: Current Trends in Postmastectomy Breast Reconstruction. *Plast Reconstr Surg* 140:7S-13S, 2017.
41. FDA: <https://www.fda.gov/medical-devices/cosmetic-devices/dermal-fillers-approved-center-devices-and-radiological-health>, letzter Zugriff 23.04.2020.
42. Jacovella PF: Use of calcium hydroxylapatite (Radiesse) for facial augmentation. *Clin Interv Aging* 3:161-174, 2008.
43. Murray CA, Zloty D, Warshawski L: The evolution of soft tissue fillers in clinical practice. *Dermatol Clin* 23:343-363, 2005.

44. Lemperle G, Morhenn V, Charrier U: Human histology and persistence of various injectable filler substances for soft tissue augmentation. *Aesthetic Plast Surg* 27:354-367, 2003.
45. Lemperle G, Gauthier-Hazan N, Wolters M, et al: Foreign body granulomas after all injectable dermal fillers: part 1. Possible causes. *Plast Reconstr Surg* 123:1842-1863, 2009.
46. Sherman RN: Global Volumetric Assessment and Three-Dimensional Enhancement of the Face With Injectable Poly-L-lactic Acid. *J Clin Aesthet Dermatol* 3:27-33, 2010.
47. Lemperle G, Gauthier-Hazan N, Lemperle M: PMMA-Microspheres (Artecoll) for long-lasting correction of wrinkles: refinements and statistical results. *Aesthetic Plast Surg* 22:356-365, 1998.
48. Krastev TK, Beugels J, Hommes J, et al: Efficacy and Safety of Autologous Fat Transfer in Facial Reconstructive Surgery: A Systematic Review and Meta-analysis. *JAMA Facial Plast Surg* 20:351-360, 2018.
49. Delay E, Guerid S, Meruta AC: Indications and Controversies in Lipofilling for Partial Breast Reconstruction. *Clin Plast Surg* 45:101-110, 2018.
50. Wang CF, Zhou Z, Yan YJ, et al: Clinical analyses of clustered microcalcifications after autologous fat injection for breast augmentation. *Plast Reconstr Surg* 127:1669-1673, 2011.
51. Choi M, Small K, Levovitz C, et al: The volumetric analysis of fat graft survival in breast reconstruction. *Plast Reconstr Surg* 131:185-191, 2013.
52. Baumann L, Kaufman J, Saghari S: Collagen fillers. *Dermatol Ther* 19:134-140, 2006.
53. Grant SA, Zhu J, Gootee J, et al: Gold Nanoparticle-Collagen Gels for Soft Tissue Augmentation. *Tissue Eng Part A* 24:1091-1098, 2018.
54. Bauman L: CosmoDerm/CosmoPlast (human bioengineered collagen) for the aging face. *Facial Plast Surg* 20:125-128, 2004.
55. Reinmuller J: Hyaluronic acid in esthetic medicine--history, development, current significance. *J Dtsch Dermatol Ges* 6 Suppl 2:4-9, 2008.
56. Beasley KL, Weiss MA, Weiss RA: Hyaluronic acid fillers: a comprehensive review. *Facial Plast Surg* 25:86-94, 2009.
57. Monheit GD: Hyaluronic acid fillers: Hylaform and Captique. *Facial Plast Surg Clin North Am* 15:77-84, 2007.
58. Wang F, Garza LA, Kang S, et al: In vivo stimulation of de novo collagen production caused by cross-linked hyaluronic acid dermal filler injections in photodamaged human skin. *Arch Dermatol* 143:155-163, 2007.
59. Bertossi D, Sbarbati A, Cerini R, et al: Hyaluronic acid: in vitro and in vivo analysis, biochemical properties and histological and morphological evaluation of injected filler. *Eur J Dermatol* 23:449-455, 2013.
60. Gold MH: Use of hyaluronic acid fillers for the treatment of the aging face. *Clin Interv Aging* 2:369-376, 2007.
61. Park KY, Kim HK, Kim BJ: Comparative study of hyaluronic acid fillers by in vitro and in vivo testing. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 28:565-568, 2014.
62. McCleave MJ: Is breast augmentation using hyaluronic acid safe? *Aesthetic Plast Surg* 34:65-70, 2010.
63. Zhang L, Underhill CB, Chen L: Hyaluronan on the surface of tumor cells is correlated with metastatic behavior. *Cancer Res* 55:428-433, 1995.

64. Salwowska NM, Bebenek KA, Zadlo DA, et al: Physiochemical properties and application of hyaluronic acid: a systematic review. *J Cosmet Dermatol* 15:520-526, 2016.
65. Carruthers A, Carruthers J: Non-animal-based hyaluronic acid fillers: scientific and technical considerations. *Plast Reconstr Surg* 120:33-40, 2007.
66. Sundaram H, Cassuto D: Biophysical characteristics of hyaluronic acid soft-tissue fillers and their relevance to aesthetic applications. *Plast Reconstr Surg* 132:5-21, 2013.
67. Jacovella PF: Calcium hydroxylapatite facial filler (Radiesse): indications, technique, and results. *Clin Plast Surg* 33:511-523, 2006.
68. Kadouch JA: Calcium hydroxylapatite: A review on safety and complications. *J Cosmet Dermatol* 16:152-161, 2017.
69. Goldberg DJ, Amin S, Hussain M: Acne scar correction using calcium hydroxylapatite in a carrier-based gel. *J Cosmet Laser Ther* 8:134-136, 2006.
70. Comite SL, Liu JF, Balasubramanian S, et al: Treatment of HIV-associated facial lipoatrophy with Radiance FN (Radiesse). *Dermatol Online J* 10:2, 2004.
71. Marmur ES, Phelps R, Goldberg DJ: Clinical, histologic and electron microscopic findings after injection of a calcium hydroxylapatite filler. *J Cosmet Laser Ther* 6:223-226, 2004.
72. Pavicic T: Complete biodegradable nature of calcium hydroxylapatite after injection for malar enhancement: an MRI study. *Clin Cosmet Investig Dermatol* 8:19-25, 2015.
73. Carruthers A, Liebeskind M, Carruthers J, et al: Radiographic and computed tomographic studies of calcium hydroxylapatite for treatment of HIV-associated facial lipoatrophy and correction of nasolabial folds. *Dermatol Surg* 34 Suppl 1:78-84, 2008.
74. Lemperle G, Knapp TR, Sadick NS, et al: ArteFill permanent injectable for soft tissue augmentation: I. Mechanism of action and injection techniques. *Aesthetic Plast Surg* 34:264-272, 2010.
75. Rullan PP: Soft tissue augmentation using artecoll: a personal experience. *Facial Plast Surg* 20:111-116, 2004.
76. Lemperle G, Ott H, Charrier U, et al: PMMA microspheres for intradermal implantation: Part I. Animal research. *Ann Plast Surg* 26:57-63, 1991.
77. Kinney BM, Hughes CE, 3rd: Soft tissue fillers: an overview. *Aesthet Surg J* 21:469-471, 2001.
78. Lemperle G, Romano JJ, Busso M: Soft tissue augmentation with artecoll: 10-year history, indications, techniques, and complications. *Dermatol Surg* 29:573-587; discussion 587, 2003.
79. Cohen SR, Berner CF, Busso M, et al: Five-year safety and efficacy of a novel polymethylmethacrylate aesthetic soft tissue filler for the correction of nasolabial folds. *Dermatol Surg* 33 Suppl 2:222-230, 2007.
80. Cohen S, Dover J, Monheit G, et al: Five-Year Safety and Satisfaction Study of PMMA-Collagen in the Correction of Nasolabial Folds. *Dermatol Surg* 41 Suppl 1:302-313, 2015.
81. Dayan SH, Bassichis BA: Facial dermal fillers: selection of appropriate products and techniques. *Aesthet Surg J* 28:335-347, 2008.
82. Salles AG, Lotierzo PH, Gemperli R, et al: Complications after polymethylmethacrylate injections: report of 32 cases. *Plast Reconstr Surg* 121:1811-1820, 2008.

83. Alam M, Tung R: Injection technique in neurotoxins and fillers: Indications, products, and outcomes. *J Am Acad Dermatol* 79:423-435, 2018.
84. Vleggaar D: Facial volumetric correction with injectable poly-L-lactic acid. *Dermatol Surg* 31:1511-1518, 2005.
85. Schierle CF, Casas LA: Nonsurgical rejuvenation of the aging face with injectable poly-L-lactic acid for restoration of soft tissue volume. *Aesthet Surg J* 31:95-109, 2011.
86. Vleggaar D, Bauer U: Facial enhancement and the European experience with Sculptra (poly-L-lactic acid). *J Drugs Dermatol* 3:542-547, 2004.
87. Rotunda AM, Narins RS: Poly-L-lactic acid: a new dimension in soft tissue augmentation. *Dermatol Ther* 19:151-158, 2006.
88. Lacombe V: Sculptra: a stimulatory filler. *Facial Plast Surg* 25:95-99, 2009.
89. Schulman MR, Lipper J, Skolnik RA: Correction of chest wall deformity after implant-based breast reconstruction using poly-L-lactic acid (Sculptra). *Breast J* 14:92-96, 2008.
90. Bartus C, William Hanke C, Daro-Kaftan E: A decade of experience with injectable poly-L-lactic acid: a focus on safety. *Dermatol Surg* 39:698-705, 2013.
91. Eppley BL, Dadvand B: Injectable soft-tissue fillers: clinical overview. *Plast Reconstr Surg* 118:98e-106e, 2006.
92. Salles AG, Lotierzo PH, Gimenez R, et al: Evaluation of the poly-L-lactic acid implant for treatment of the nasolabial fold: 3-year follow-up evaluation. *Aesthetic Plast Surg* 32:753-756, 2008.
93. Anderson JM, Schoen FJ: In Vivo Assessment of Tissue Compatibility, in Ratner BD, Hoffman AS, Schoen FJ, et al (eds): *Biomaterials Science: An Introduction to Materials in Medicine* (ed 3), San Diego, Academic Press, 2013, pp 610-612, 615.
94. Hilborn J, Bjursten LM: A new and evolving paradigm for biocompatibility. *J Tissue Eng Regen Med* 1:110-119, 2007.
95. Ratner BD, Schoen FJ: The Concept and Assessment of Biocompatibility, in Ratner BD, Hoffman AS, Schoen FJ, et al (eds): *Biomaterials Science: An introduction to Materials in Medicine* (ed 3), San Diego, Academic Press, 2013, pp 589-591.
96. Bolten LL, Pines E, Rovee DT: Wound Healing and Integumentary System, in Swindle MM, Adams RJ (eds): *Experimental Surgery and Physiology: Induced Animal Models of Human Disease*, Baltimore, Williams & Wilkins, 1988, p 1.
97. Dahiya P: Burns as a model of SIRS. *Front Biosci (Landmark Ed)* 14:4962-4967, 2009.
98. Ganderup NC, Harvey W, Mortensen JT, et al: The minipig as nonrodent species in toxicology--where are we now? *Int J Toxicol* 31:507-528, 2012.
99. van der Laan JW, Brightwell J, McAnulty P, et al: Regulatory acceptability of the minipig in the development of pharmaceuticals, chemicals and other products. *J Pharmacol Toxicol Methods* 62:184-195, 2010.
100. Hampshire VA, Gilbert SH: Refinement, Reduction, and Replacement (3R) Strategies in Preclinical Testing of Medical Devices. *Toxicol Pathol* 47:329-338, 2019.
101. Swindle MM, Makin A, Herron AJ, et al: Swine as models in biomedical research and toxicology testing. *Vet Pathol* 49:344-356, 2012.
102. Constable PD, Hinchcliff KW, Done SH, et al: Diseases of the Alimentary Tract: Nonruminant, in Constable PD, Hinchcliff KW, Done SH, et al (eds): *Veterinary Medicine: A Textbook of the Diseases of Cattle, Horses, Sheep, Pigs, and Goats* (ed 11), Vol 1. St. Louis, Elsevier Ltd., 2017, pp 288, 290.

103. Mahl JA, Vogel BE, Court M, et al: The minipig in dermatotoxicology: methods and challenges. *Exp Toxicol Pathol* 57:341-345, 2006.
104. Davidson JM: Animal models for wound repair. *Arch Dermatol Res* 290 Suppl:1-11, 1998.
105. Meyer W, Schwarz R, Neurand K: The skin of domestic mammals as a model for the human skin, with special reference to the domestic pig. *Curr Probl Dermatol* 7:39-52, 1978.
106. Abdullahi A, Amini-Nik S, Jeschke MG: Animal models in burn research. *Cell Mol Life Sci* 71:3241-3255, 2014.
107. Hee CK, Shumate GT, Narurkar V, et al: Rheological Properties and In Vivo Performance Characteristics of Soft Tissue Fillers. *Dermatol Surg* 41 Suppl 1:373-381, 2015.
108. Ramot Y, Touitou D, Levin G, et al: Interspecies differences in reaction to a biodegradable subcutaneous tissue filler: severe inflammatory granulomatous reaction in the Sinclair minipig. *Toxicol Pathol* 43:267-271, 2015.
109. Hillel AT, Nahas Z, Unterman S, et al: Validation of a small animal model for soft tissue filler characterization. *Dermatol Surg* 38:471-478, 2012.
110. Ramires PA, Miccoli MA, Panzarini E, et al: In vitro and in vivo biocompatibility evaluation of a polyalkylimide hydrogel for soft tissue augmentation. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* 72:230-238, 2005.
111. Farkas JP, Richardson JA, Brown S, et al: Effects of common laser treatments on hyaluronic acid fillers in a porcine model. *Aesthet Surg J* 28:503-511, 2008.
112. Shumaker PR, England LJ, Dover JS, et al: Effect of monopolar radiofrequency treatment over soft-tissue fillers in an animal model: part 2. *Lasers Surg Med* 38:211-217, 2006.
113. Ji DY, Kuo TF, Wu HD, et al: A novel injectable chitosan/polyglutamate polyelectrolyte complex hydrogel with hydroxyapatite for soft-tissue augmentation. *Carbohydr Polym* 89:1123-1130, 2012.
114. Pitaru S, Noff M, Blok L, et al: Long-term efficacy of a novel ribose-cross-linked collagen dermal filler: a histologic and histomorphometric study in an animal model. *Dermatol Surg* 33:1045-1054, 2007.
115. Devore D, Zhu J, Brooks R, et al: Development and characterization of a rapid polymerizing collagen for soft tissue augmentation. *J Biomed Mater Res A* 104:758-767, 2016.
116. Huh JB, Kim JH, Kim S, et al: Effects of PMMA and Cross-Linked Dextran Filler for Soft Tissue Augmentation in Rats. *Int J Mol Sci* 16:28523-28533, 2015.
117. Bello G, Jackson IT, Keskin M, et al: The use of polyacrylamide gel in soft-tissue augmentation: an experimental assessment. *Plast Reconstr Surg* 119:1326-1336, 2007.
118. Chang SH, Yousefi S, Qin J, et al: External Compression Versus Intravascular Injection: A Mechanistic Animal Model of Filler-Induced Tissue Ischemia. *Ophthalmic Plast Reconstr Surg* 32:261-266, 2016.
119. Williams DF: Dictionary, in Williams DF (ed): *The Williams Dictionary of Biomaterials*, Liverpool, Liverpool University Press, 1999, p 40.
120. Anderson JM, McNally AK: Biocompatibility of implants: lymphocyte/macrophage interactions. *Semin Immunopathol* 33:221-233, 2011.
121. Anderson JM, Rodriguez A, Chang DT: Foreign body reaction to biomaterials. *Semin Immunol* 20:86-100, 2008.

122. Onuki Y, Bhardwaj U, Papadimitrakopoulos F, et al: A review of the biocompatibility of implantable devices: current challenges to overcome foreign body response. *J Diabetes Sci Technol* 2:1003-1015, 2008.
123. Anderson JM: Multinucleated giant cells. *Curr Opin Hematol* 7:40-47, 2000.
124. Kumar V, Cotran RS, Robbins SL: Acute and Chronic Inflammation, in Kumar V, Cotran RS, Robbins SL (eds): *Robbins Basic Pathology* (ed 7), Philadelphia, Saunders, 2003, p 56.
125. Baumgärtner W, Schmidt P: Entzündung, in Baumgärtner W, Gruber A (eds): *Allgemeine Pathologie für die Tiermedizin* (ed 2), Stuttgart, Enke Verlag, 2010, p 174.
126. Bühling KJ, Lepenies J, Witt K: Sonderformen der Entzündung, in Bühling KJ, Lepenies J, Witt K (eds): *Intensivkurs Allgemeine und spezielle Pathologie* (ed 3), München, Urban & Fischer Verlag/Elsevier GmbH, 2004, p 75.
127. Alijotas-Reig J, Fernandez-Figueras MT, Puig L: Inflammatory, immune-mediated adverse reactions related to soft tissue dermal fillers. *Semin Arthritis Rheum* 43:241-258, 2013.
128. Schoen FJ, Mitchell RN: Tissues, the Extracellular Matrix, and Cell-Biomaterial Interactions, in Ratner BD, Hoffman AS, Schoen FJ, et al (eds): *Biomaterials Science: An introduction to Materials in Medicine* (ed 3), San Diego, Academic Press, 2013, pp 464-465.
129. Wolf MF, Coleman KP, Lewerenz GM: In Vitro Assessment of Cell and Tissue Compatibility, in Ratner BD, Hoffman AS, Schoen FJ, et al (eds): *Biomaterials Science: An introduction to Materials in Medicine* (ed 3), San Diego, Academic Press, 2013, p 605.
130. Anderson JM: Future challenges in the in vitro and in vivo evaluation of biomaterial biocompatibility. *Regen Biomater* 3:73-77, 2016.
131. Bollen LS: Preclinical evaluation of medical devices. *Med Device Technol* 11:8-11, 2000.
132. Fernandez-Cossio S, Castano-Oreja MT: Biocompatibility of two novel dermal fillers: histological evaluation of implants of a hyaluronic acid filler and a polyacrylamide filler. *Plast Reconstr Surg* 117:1789-1796, 2006.
133. Wortsman X: Identification and Complications of Cosmetic Fillers: Sonography First. *J Ultrasound Med* 34:1163-1172, 2015.
134. Grippaudo FR, Di Girolamo M, Mattei M, et al: Diagnosis and management of dermal filler complications in the perioral region. *J Cosmet Laser Ther* 16:246-252, 2014.
135. Grippaudo FR, Mattei M: The utility of high-frequency ultrasound in dermal filler evaluation. *Ann Plast Surg* 67:469-473, 2011.
136. Young SR, Bolton PA, Downie J: Use of high-frequency ultrasound in the assessment of injectable dermal fillers. *Skin Res Technol* 14:320-323, 2008.
137. Giovagnorio F, Drudi FM, Valentini C, et al: Ultrasonography in follow-up of soft tissue augmentation of the face with synthetic materials: a pilot study. *Acta Radiol* 45:746-750, 2004.
138. Mlosek RK, Skrzypek E, Skrzypek DM, et al: High-frequency ultrasound-based differentiation between nodular dermal filler deposits and foreign body granulomas. *Skin Res Technol* 24:417-422, 2018.
139. Di Girolamo M, Mattei M, Signore A, et al: MRI in the evaluation of facial dermal fillers in normal and complicated cases. *Eur Radiol* 25:1431-1442, 2015.
140. Merz Aesthetics™ Inc.: Radiesse®, Einspritzbares Implantat, Gebrauchsanleitung, 2013.

141. Persönliche Kommunikation: Erika Brüllmann, Senior Applicationspecialist MR, VF, EWS, HIFU, ISP.
142. Bushberg JT, Seibert JA, Leidholdt EM, et al: Magnetic Resonance Basics: Magnetic Fields, Nuclear Magnetic Characteristics, Tissue Contrast, Image Acquisition, in Bushberg JT, Seibert JA, Leidholdt EM, et al (eds): The Essential Physics of Medical Imaging (ed 3), Philadelphia, Lippincott Williams & Wilkins, 2012, p 424.
143. <https://de.wikipedia.org/wiki/Magnetresonanztomographie>, letzter Zugriff 25.04.2020.

7 Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
Akkli	Akklimatisation
ALCL	anaplastisches-grosszelliges Lymphom
bzw.	beziehungsweise
CaHA	Calcium Hydroxylapatit
cm	Zentimeter
cm ²	Quadratzentimeter
cm ³	Kubikzentimeter
CT	Computertomographie
DIEP-Flap	tiefer inferiorer epigastrischer Perforator-Flap
EKG	Elektrokardiogramm
<i>et al.</i>	und andere
Eutha	Euthanasie
FDA	Food and Drug Administration
g	Gramm
ggr.	geringgradig
h	Stunde
HA	Hyaluronsäure
hgr.	hochgradig
HIV	Humanes Immundefizienz-Virus
I.E.	Internationale Einheit
i.m.	intramuskulär
Inj.	Injektion
ISO	International Organization for Standardization
i.v.	intravenös
kg	Kilogramm
KGW	Körpergewicht
M.	Musculus
mg	Milligramm
mgr.	mittelgradig
ml	Milliliter
mm	Millimeter

MRT	Magnetresonanztomographie/Magnetresonanztomograph
µm	Mikrometer
OP	Operation
PLLA	Poly-L-lactic acid
PMMA	Polymethylmethacrylat
p.o.	per oral
RI	Referenz-Item
sog.	sogenannte
Tab.	Tabelle
tägl.	täglich
TI	Test-Item
TRAM-Flap	Transverser Rectus Abdominis Musculocutaneus-Flap
US	Ultraschall
V.	Vena
Vol	Volumen
z.B.	zum Beispiel

8 Anhang

8.1 Tabellen

Tab. 1: Score Sheet für die tägliche Beurteilung der Injektionsstellen

Datum	Injektionsstelle ¹	Farbe des Injektionsbereiches ²	Lokale Temperatur ³	Sekret ⁴	Naht ⁵	Lokale Schwellung ⁶	Score Summe (5-20)	Kürzel
	1	1 2 3 4	1 2 3 4	1 2 3 4	1 2 3 4	1 2 3 4		
	2	1 2 3 4	1 2 3 4	1 2 3 4	1 2 3 4	1 2 3 4		
	3	1 2 3 4	1 2 3 4	1 2 3 4	1 2 3 4	1 2 3 4		
	4	1 2 3 4	1 2 3 4	1 2 3 4	1 2 3 4	1 2 3 4		
	5	1 2 3 4	1 2 3 4	1 2 3 4	1 2 3 4	1 2 3 4		
	6	1 2 3 4	1 2 3 4	1 2 3 4	1 2 3 4	1 2 3 4		
	7	1 2 3 4	1 2 3 4	1 2 3 4	1 2 3 4	1 2 3 4		
	8	1 2 3 4	1 2 3 4	1 2 3 4	1 2 3 4	1 2 3 4		
	9	1 2 3 4	1 2 3 4	1 2 3 4	1 2 3 4	1 2 3 4		
	10	1 2 3 4	1 2 3 4	1 2 3 4	1 2 3 4	1 2 3 4		
	11	1 2 3 4	1 2 3 4	1 2 3 4	1 2 3 4	1 2 3 4		
	12	1 2 3 4	1 2 3 4	1 2 3 4	1 2 3 4	1 2 3 4		

¹ 1-6: rechts, 7-12: links

² Farbe des Injektionsbereiches: 1: physiologisch, 2: rötlich, 3: rot, 4: dunkelrot

³ Lokale Temperatur: 1: physiologisch, 2: leicht wärmer, 3: deutlich wärmer, 4: heiss

⁴ Sekret: 1: kein Sekret, 2: leicht nässend, 3: seröses/serosanguinöses Sekret, 4: eitriges Sekret

⁵ Naht: 1: keine Befunde, 2: leichte Dehiszenz, aber in Granulation, 3: deutlich auseinanderklaffend, 4: vollständige Dehiszenz (Score 1, wenn keine Nähte vorhanden sind)

⁶ Lokale Schwellung: 1: keine Schwellung, 2: leichte Schwellung, 3: deutliche Schwellung, 4: starke Schwellung

Einzelner Score von 4 oder Summe der Scores von 10 oder höher: Studienleiter für Behandlungsentscheidung informieren

Tab. 2: Score Sheet für die monatliche makroskopische Beurteilung der Injektionsstellen

Tier:	
Datum der Injektion:	
Datum Evaluation	

Injektion	Befunde	Palpation	Grösse (cm)
1		1 2	
2		1 2	
3		1 2	
4		1 2	
5		1 2	
6		1 2	
7		1 2	
8		1 2	
9		1 2	
10		1 2	
11		1 2	
12		1 2	

1: Palpierbarkeit: +++ sehr gut, ++ gut, + schlecht, o nicht zu palpieren

2: Konsistenz: +++ deutlich härter als das umliegende Gewebe, ++ härter als das umliegende Gewebe, + wie das umliegende Gewebe, o nicht zu palpieren

Tab. 3: Kriterien für Evaluation der histologischen Schnitte modifiziert nach der ISO10993-6:2016(E): Entzündungszellen

Scoring Schema für Entzündungszellen					
Zelltyp/Reaktion	Score				
	0	1	2	3	4
Polymorphkernige Zellen	0	Selten, 1-5/hpf ^a	5-10/hpf ^a	Starke Infiltration	Gebündelt
Eosinophile	0				
Lymphozyten	0				
Plasmazellen	0				
Makrophagen	0	Selten, 1-2/hpf ^a	3-5/hpf ^a	Moderat	Platten
Riesenzellen	0				Stark
Nekrose (Mineralisation)	0	Minimal	Mild	Moderat	Stark
^a hpf: Hauptgesichtsfeld (400x)					

Tab. 4: Kriterien für Evaluation der histologischen Schnitte modifiziert nach der ISO10993-6:2016(E): Gewebereaktionen

Scoring Schema für Gewebereaktionen					
Reaktion	Score				
	0	1	2	3	4
Neovaskularisation	0	Minimale Kapillarproliferation, fokal, 1-3 Knospen	Gruppen von 4-7 Kapillaren mit unterstützenden fibroblastischen Strukturen	Breiter Bereich von Kapillaren mit unterstützenden fibroblastischen Strukturen	Ausgedehnter Bereich von Kapillaren mit unterstützenden fibroblastischen Strukturen
Fibrose	0	Schmaler Streifen	Mässig breiter Streifen	Breiter Streifen	Ausgedehnter Streifen

Tab. 5: Kriterien für Evaluation der histologischen Schnitte modifiziert nach der ISO 10993-6:2016(E): Materialparameter

Scoring Schema für Materialparameter/zusätzliche Befunde				
Parameter	Score			
	0	1	2	3
Granulombildung	Nicht vorhanden	Vorhanden	*	*
Fremdmaterial (implantiertes Material)	Nicht vorhanden	Frei	Zell-assoziiert (Makrophagen)	Frei und zell-assoziiert
Menge und Verteilung des Fremdmaterials (wenn vorhanden)	Nicht vorhanden	Geringe Menge (fokal)	Moderate Menge (vereinzelte Bereiche)	Reichlich (multifokal bis verschmelzend oder fokal innerhalb eines Granuloms)
Anzahl der untersuchten Schnitte				

* Score nicht vorhanden

Tab. 6: Resultate der monatlichen makroskopischen Beurteilung der Injektionsstellen, 99.01, 2 Monate

Injektion	Befunde	Palpation	Grösse (cm)
1	Kleine Krusten	1: ++; 2: ++	2.5x1.5
2	Kleine Krusten	1: +++; 2: +++	3x3.5
3	/	1: ++; 2: +++	3x3
4	Kleine Krusten	1: +; 2: +	-
5	/	1: +++; 2: +++	2.5x2
6	Kleine Krusten	1: +++; 2: +++	3.2x3.5
7	/	1: ++; 2: ++	1.5x2
8	/	1: +; 2: +	-
9	/	1: ++; 2: ++	1x1
10	/	1: +++; 2: ++	2.5x2
11	/	1: ++; 2: ++	1x1
12	/	1: +++; 2: +++	3x3

1 Palpierbarkeit: +++ sehr gut, ++ gut, + schlecht, o nicht zu palpieren

2 Konsistenz: +++ deutlich härter als das umliegende Gewebe, ++ härter als das umliegende Gewebe, + wie das umliegende Gewebe, o nicht zu palpieren

/: keine Befunde; -: nicht messbar

Tab. 7: Resultate der monatlichen makroskopischen Beurteilung der Injektionsstellen, 99.01, 3 Monate

Injektion	Befunde	Palpation	Grösse (cm)
1	/	1: ++; 2: ++	2x2
2	/	1: ++; 2: ++	3x3
3	/	1: ++; 2: ++	2.5x2.5
4	/	1: o; 2: o	-
5	/	1: ++; 2: ++	2.5x2.5
6	/	1: ++; 2: ++	4x3
7	/	1: ++; 2: ++	1.5x1.5
8	/	1: ++; 2: ++	2x2
9	/	1: ++; 2: ++	1.5x1.5
10	/	1: ++; 2: ++	3x3
11	/	1: ++; 2: ++	3x3
12	/	1: ++; 2: ++	1.5x1.5

1 Palpierbarkeit: +++ sehr gut, ++ gut, + schlecht, o nicht zu palpieren

2 Konsistenz: +++ deutlich härter als das umliegende Gewebe, ++ härter als das umliegende Gewebe, + wie das umliegende Gewebe, o nicht zu palpieren

/: keine Befunde; -: nicht messbar

Tab. 8: Resultate der monatlichen makroskopischen Beurteilung der Injektionsstellen, 99.01, 4 Monate

Injektion	Befunde	Palpation	Grösse (cm)
1	Narbe leicht gerötet	1: o; 2: o	-
2	2 Krusten	1: ++; 2: ++	2x2
3	/	1: ++; 2: ++	3x3
4	/	1: +; 2: +	-
5	/	1: ++; 2: ++	3x3
6	/	1: +++; 2: ++	4x4
7	Biopsiebereich leicht gerötet	1: o; 2: o	-
8	Krusten im Biopsiebereich	1: o; 2: o	-
9	/	1: o; 2: o	-
10	/	1: o; 2: o	-
11	/	1: +; 2: +	2x2
12	/	1: +; 2: +	-

1 Palpierbarkeit: +++ sehr gut, ++ gut, + schlecht, o nicht zu palpieren

2 Konsistenz: +++ deutlich härter als das umliegende Gewebe, ++ härter als das umliegende Gewebe, + wie das umliegende Gewebe, o nicht zu palpieren

/: keine Befunde; -: nicht messbar

Tab. 9: Resultate der monatlichen makroskopischen Beurteilung der Injektionsstellen, 99.01, 5 Monate

Injektion	Befunde	Palpation	Grösse (cm)
1	/	1: +; 2: +	2x2
2	Kleine Krusten	1: ++; 2: ++	2.5x2.5
3	Biopsiebereich leicht gerötet	1: ++; 2: ++	3.5x3.5
4	/	1: ++; 2: ++	2.5x2.5
5	/	1: ++; 2: ++	2.5x2.5
6	/	1: ++; 2: ++	3.5x3.5
7	/	1: ++; 2: ++	2x2
8	/	1: +; 2: +	2.5x2.5
9	Biopsiebereich leicht gerötet	1: ++; 2: ++	2.5x2.5
10	/	1: ++; 2: ++	2.5x2.5
11	/	1: ++; 2: ++	3x3
12	/	1: ++; 2: ++	3.5x3.5

1 Palpierbarkeit: +++ sehr gut, ++ gut, + schlecht, o nicht zu palpieren

2 Konsistenz: +++ deutlich härter als das umliegende Gewebe, ++ härter als das umliegende Gewebe, + wie das umliegende Gewebe, o nicht zu palpieren

/: keine Befunde

Tab. 10: Resultate der monatlichen makroskopischen Beurteilung der Injektionsstellen, 99.01, 6 Monate

Injektion	Befunde	Palpation	Grösse (cm)
1	/	1: ++; 2: ++	1.5x1.5
2	/	1: ++; 2: ++	1.5x1.5
3	/	1: ++; 2: ++	3x1.5
4	/	1: ++; 2: ++	2x1.5
5	/	1: +++; 2: +++	3x2.5
6	/	1: +++; 2: +++	2.5x2.5
7	/	1: ++; 2: ++	2x2
8	/	1: ++; 2: ++	3x2
9	/	1: ++; 2: ++	2x2
10	/	1: o; 2: o	-
11	/	1: ++; 2: ++	2.5x2
12	/	1: ++; 2: ++	3x2.5

1 Palpierbarkeit: +++ sehr gut, ++ gut, + schlecht, o nicht zu palpieren

2 Konsistenz: +++ deutlich härter als das umliegende Gewebe, ++ härter als das umliegende Gewebe, + wie das umliegende Gewebe, o nicht zu palpieren

/: keine Befunde; -: nicht messbar

Tab. 11: Resultate der monatlichen makroskopischen Beurteilung der Injektionsstellen, 99.02, 2 Monate

Injektion	Befunde	Palpation	Grösse (cm)
1	Kleine Krusten	1: +; 2: +	1.5x1.5
2	/	1: +; 2: ++	3.5x2.5
3	/	1: ++; 2: ++	2.5x1.5
4	/	1: +; 2: ++	3.5x3
5	/	1: +; 2: ++	3x3
6	/	1: +; 2: +	1.5x2.5
7	Hautrötung über dem injizierten Material	1: +++; 2: +++	3.5x3
8	Hauterosion	1: +++; 2: +++	3.5x2.5
9	Hautrötung über dem injizierten Material	1: +++; 2: +++	3.5x 3
10	/	1: ++; 2: ++	3.5x3.5
11	/	1: +++; 2: +++	3.5x3.5
12	Hautrötung über dem injizierten Material	1: +++; 2: +++	3.5x2.5

1 Palpierbarkeit: +++ sehr gut, ++ gut, + schlecht, o nicht zu palpieren

2 Konsistenz: +++ deutlich härter als das umliegende Gewebe, ++ härter als das umliegende Gewebe, + wie das umliegende Gewebe, o nicht zu palpieren

/: keine Befunde

Tab. 12: Resultate der monatlichen makroskopischen Beurteilung der Injektionsstellen,
99.02, 3 Monate

Injektion	Befunde	Palpation	Grösse (cm)
1	/	1: ++; 2: ++	2.5x2.5
2	/	1: ++; 2: ++	2.5x2.5
3	/	1: o; 2: o	-
4	/	1: ++; 2: ++	2.5x3
5	/	1: ++; 2: ++	2.5x2.5
6	/	1: ++; 2: ++	2.5x2.5
7	/	1: ++; 2: ++	3.5x3
8	/	1: ++; 2: ++	3x3
9	Kleine Öffnung mit Austritt von Eiter und TI	1: ++; 2: ++	3x3
10	/	1: ++; 2: ++	2x2
11	/	1: ++; 2: ++	4x3
12	/	1: ++; 2: ++	2.5x2.5

1 Palpierbarkeit: +++ sehr gut, ++ gut, + schlecht, o nicht zu palpieren

2 Konsistenz: +++ deutlich härter als das umliegende Gewebe, ++ härter als das umliegende Gewebe, + wie das umliegende Gewebe, o nicht zu palpieren

/: keine Befunde; -: nicht messbar

Tab. 13: Resultate der monatlichen makroskopischen Beurteilung der Injektionsstellen,
99.02, 4 Monate

Injektion	Befunde	Palpation	Grösse (cm)
1	Narbe sichtbar (von der Biopsie)	1: ++; 2: ++	1.5x1.5
2	/	1: +; 2: +	2x2
3	/	1: +; 2: +	2x2
4	/	1: o; 2: o	-
5	/	1: +; 2: +	3x3
6	/	1: +; 2: +	3x3
7	Hautrötung, Knoten sichtbar	1: *; 2: *	2.5x2.5
8	/	1: +; 2: +	2x2
9	Zusätzlicher Knoten neben dem Injektionsbereich	1: *; 2: *	1x1
10	/	1: +; 2: +	1x1
11	/	1: ++; 2: ++	3.5x3.5
12	/	1: ++; 2: ++	2x2

1 Palpierbarkeit: +++ sehr gut, ++ gut, + schlecht, o nicht zu palpieren

2 Konsistenz: +++ deutlich härter als das umliegende Gewebe, ++ härter als das umliegende Gewebe, + wie das umliegende Gewebe, o nicht zu palpieren

/: keine Befunde; -: nicht messbar, *: kein Befund erhoben

Tab. 14: Resultate der monatlichen makroskopischen Beurteilung der Injektionsstellen, 99.02, 5 Monate

Injektion	Befunde	Palpation	Grösse (cm)
1	/	1: +; 2: +	2x2
2	/	1: +; 2: +	3x3
3	/	1: o; 2: o	-
4	/	1: +; 2: +	3.5x3.5
5	/	1: +; 2: +	3.5x3.5
6	/	1: +; 2: +	3x3
7	Kleine Krusten	1: +; 2: +	2x2
8	/	1: +; 2: +	2.5x2.5
9	/	1: +; 2: +	2.5x2.5
10	/	1: +; 2: +	2.5x2.5
11	/	1: +; 2: +	2.5x2.5
12	/	1: o; 2: o	-

1 Palpierbarkeit: +++ sehr gut, ++ gut, + schlecht, o nicht zu palpieren

2 Konsistenz: +++ deutlich härter als das umliegende Gewebe, ++ härter als das umliegende Gewebe, + wie das umliegende Gewebe, o nicht zu palpieren

/: keine Befunde; -: nicht messbar

Tab. 15: Resultate der monatlichen makroskopischen Beurteilung der Injektionsstellen, 99.02, 6 Monate

Injektion	Befunde	Palpation	Grösse (cm)
1	/	1: ++; 2: ++	2x2
2	/	1: o; 2: o	-
3	/	1: ++; 2: ++	1.5x1.5
4	/	1: ++; 2: ++	1.5x1.5
5	/	1: ++; 2: ++	2.5x2.5
6	/	1: o; 2: o	-
7	/	1: ++; 2: ++	1x1
8	/	1: o; 2: o	-
9	/	1: ++; 2: ++	2x2
10	/	1: ++; 2: ++	2x2
11	/	1: +++; 2: +++	2.5x2.5
12	/	1: ++; 2: ++	3x3

1 Palpierbarkeit: +++ sehr gut, ++ gut, + schlecht, o nicht zu palpieren

2 Konsistenz: +++ deutlich härter als das umliegende Gewebe, ++ härter als das umliegende Gewebe, + wie das umliegende Gewebe, o nicht zu palpieren

/: keine Befunde; -: nicht messbar

Tab. 16: Resultate der monatlichen makroskopischen Beurteilung der Injektionsstellen, 99.03, 2 Monate

Injektion	Befunde	Palpation	Grösse (cm)
1	/	1: ++; 2: ++	3x3
2	Hautrötung	1: ++; 2: ++	6x3.5
3	/	1: ++; 2: +++	2x2.5
4	/	1: ++; 2: +	3.5x3
5	/	1: ++; 2: +++	3.5x4
6	/	1: ++; 2: +++	3x3
7	/	1: ++; 2: +	3x1.5
8	/	1: ++; 2: +	3.5x2.5
9	/	1: +; 2: +	2.5x2.5
10	/	1: ++; 2: +	2.5x3
11	/	1: +; 2: +	3x3.5
12	/	1: +; 2: +	1.5x1.5

1 Palpierbarkeit: +++ sehr gut, ++ gut, + schlecht, o nicht zu palpieren

2 Konsistenz: +++ deutlich härter als das umliegende Gewebe, ++ härter als das umliegende Gewebe, + wie das umliegende Gewebe, o nicht zu palpieren

/: keine Befunde

Tab. 17: Resultate der monatlichen makroskopischen Beurteilung der Injektionsstellen, 99.03, 3 Monate

Injektion	Befunde	Palpation	Grösse (cm)
1	/	1: ++; 2: ++	3.5x3.5
2	/	1: ++; 2: ++	2.5x2.5
3	/	1: ++; 2: ++	1.5x1.5
4	/	1: ++; 2: ++	3x3
5	/	1: ++; 2: ++	3.5x3.5
6	/	1: ++; 2: ++	2.5x2.5
7	/	1: ++; 2: ++	1.5x1.5
8	/	1: ++; 2: ++	3.5x3.5
9	/	1: ++; 2: ++	3x3
10	/	1: ++; 2: ++	3.5x3.5
11	/	1: ++; 2: ++	3x3
12	/	1: *; 2: *	3x3

1 Palpierbarkeit: +++ sehr gut, ++ gut, + schlecht, o nicht zu palpieren

2 Konsistenz: +++ deutlich härter als das umliegende Gewebe, ++ härter als das umliegende Gewebe, + wie das umliegende Gewebe, o nicht zu palpieren

/: keine Befunde; *: kein Befund erhoben

Tab. 18: Resultate der monatlichen makroskopischen Beurteilung der Injektionsstellen, 99.03, 4 Monate

Injektion	Befunde	Palpation	Grösse (cm)
1	Narbe rötlich	1: +; 2: +	3x3
2	Narbe rötlich	1: ++; 2: ++	2.5x2.5
3	/	1: ++; 2: ++	3x3
4	/	1: ++; 2: ++	3x3
5	/	1: ++; 2: ++	2x2
6	/	1: ++; 2: ++	2.5x2.5
7	Narbe rötlich	1: ++; 2: ++	2x2
8	Narbe rötlich	1: ++; 2: ++	2.5x2.5
9	/	1: ++; 2: ++	3x3
10	/	1: ++; 2: ++	3x3
11	/	1: ++; 2: ++	3x3
12	/	1: +; 2: +	3x3

1 Palpierbarkeit: +++ sehr gut, ++ gut, + schlecht, o nicht zu palpieren

2 Konsistenz: +++ deutlich härter als das umliegende Gewebe, ++ härter als das umliegende Gewebe, + wie das umliegende Gewebe, o nicht zu palpieren

/: keine Befunde

Tab. 19: Resultate der monatlichen makroskopischen Beurteilung der Injektionsstellen, 99.03, 5 Monate

Injektion	Befunde	Palpation	Grösse (cm)
1	0.5x0.5 cm grosse Öffnung, TI sichtbar und tritt bei leichtem Druck aus	1: ++; 2: ++	1.5x1.5
2	/	1: ++; 2: ++	2.5x2.
3	Öffnung neben dem Nahtmaterial mit Austritt von Eiter	1: ++; 2: ++	3x3
4	/	1: ++; 2: ++	2x2
5	/	1: ++; 2: ++	3x3
6	/	1: ++; 2: ++	2x2
7	/	1: ++; 2: ++	2.5x2.5
8	/	1: ++; 2: ++	2.5x2.5
9	/	1: ++; 2: ++	3x3
10	/	1: ++; 2: ++	3.5x3.5
11	/	1: ++; 2: ++	3.5x3.5
12	/	1: ++; 2: ++	3.5x3.5

1 Palpierbarkeit: +++ sehr gut, ++ gut, + schlecht, o nicht zu palpieren

2 Konsistenz: +++ deutlich härter als das umliegende Gewebe, ++ härter als das umliegende Gewebe, + wie das umliegende Gewebe, o nicht zu palpieren

/: keine Befunde

Tab. 20: Resultate der monatlichen makroskopischen Beurteilung der Injektionsstellen,
99.03, 6 Monate

Injektion	Befunde	Palpation	Grösse (cm)
1	/	1: o; 2: o	-
2	/	1: ++; 2: ++	3.5x2.5
3	/	1: ++; 2: ++	2x2
4	/	1: ++; 2: ++	2x2.5
5	/	1: +++; 2: +++	3x3
6	Injektionsbereich sichtbar	1: ++; 2: ++	1.5x1.5
7	/	1: o; 2: o	-
8	/	1: o; 2: o	-
9	/	1: ++; 2: ++	3x2.5
10	/	1: ++; 2: ++	2.5x2.5
11	/	1: ++; 2: ++	3.5x3.5
12	/	1: +; 2: +	-

1 Palpierbarkeit: +++ sehr gut, ++ gut, + schlecht, o nicht zu palpieren

2 Konsistenz: +++ deutlich härter als das umliegende Gewebe, ++ härter als das umliegende Gewebe, + wie das umliegende Gewebe, o nicht zu palpieren

/: keine Befunde; -: nicht messbar

[illegible]

Blau: keine Beurteilung, grün: keine Befunde, rosa: Score >1, Inj.: Injektion, F: Farbe, S: Sekret, SW: Schwellung, T: Temperatur

Tab. 22: Befunde der täglichen Beurteilung der Injektionsstellen, 99.01, 1. bis 2. Biopsie

	1. Biopsie 21.11.2018																								
	Nov. 2018								Dez. 2018						Jan. 2019										
	22.	23.	24.	25.	26.	27.	28.	29.		21.			31.		02.	03.	04.			08.	09.	10.	11.		
Inj.	F	F	F	F	F	F	F	F		F			F		F	F	F			F	F	F	F		
1	2	2	2	2	2	1	1	1		1			1		1	1	1			1	1	1	1		
2	2	2	2	2	2	2	2	1		2			2		2	2	2			2	2	2	2		
3	1	1	1	1	1	1	1	1		1			1		1	1	1			1	1	1	1		
4	1	1	1	1	1	1	1	1		1			1		1	1	1			1	1	1	1		
5	1	1	1	1	1	1	1	1		1			1		1	1	1			1	1	1	1		
6	1	1	1	1	1	1	1	1		1			1		1	1	1			1	1	1	1		
7	2	2	2	2	2	2	2	2		1			1		1	1	1			1	1	1	1		
8	2	2	2	2	2	1	1	1		1			1		1	1	1			1	1	1	1		
9	1	1	1	1	1	1	1	1		1			1		1	1	1			1	1	1	1		
10	1	1	1	1	1	1	1	1		1			1		1	1	1			1	1	1	1		
11	1	1	1	1	1	1	1	1		1			1		1	1	1			1	1	1	1		
12	1	1	1	1	1	1	1	1		1			1		1	1	1			1	1	1	1		

Blau: keine Beurteilung, grün: keine Befunde, rosa: Score >1, Inj.: Injektion, F: Farbe

Tab. 23: Befunde der täglichen Beurteilung der Injektionsstellen, 99.01, 2. Biopsie bis Euthanasie

	2. Biopsie 15.01.2019																				Euthanasie 05.03.2019								
	Jan. 2019																Feb. 2019												
	16.	17.	18.	19.	20.	21.	22.		23.		24.		25.		26.			06.		07.			11.	12.	13.	14.	15.		18.
Inj.	F	F	F	F	F	F	F	SW	F	SW	F	SW	F	SW	F			F	SW	F	SW		SW	SW	SW	SW	SW		SW
1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1			1	1	1	1		1	1	1	1	1		1
2	2	2	2	2	1	1	1	2	1	2	1	2	1	2	1			1	1	1	1		2	2	2	2	2	2	2
3	2	2	2	2	2	2	2	1	2	1	2	1	2	1	2			2	2	2	2		2	2	2	2	2		2
4	2	2	2	2	2	2	2	1	2	1	2	1	1	1	1			1	1	1	1		1	1	1	1	1		1
5	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1			1	1	1	1		1	1	1	1	1		1
6	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1			1	1	1	1		1	1	1	1	1		1
7	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1			1	1	1	1		1	1	1	1	1		1
8	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1			1	1	1	1		1	1	1	1	1		1
9	2	2	2	2	2	2	2	1	2	1	2	1	1	1	1			1	1	1	1		1	1	1	1	1		1
10	2	2	2	2	2	2	2	1	2	1	2	1	1	1	1			1	1	1	1		1	1	1	1	1		1
11	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1			1	1	1	1		1	1	1	1	1		1
12	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1			1	1	1	1		1	1	1	1	1		1

Blau: keine Beurteilung, grün: keine Befunde, rosa: Score >1, Inj.: Injektion, F: Farbe, SW: Schwellung

Tab. 24: Befunde der täglichen Beurteilung der Injektionsstellen, 99.02, OP bis 1. Biopsie

	OP 26.09.18																														
	Okt. 2018												Nov. 2018																		
	15.	16.	17.	18.		22.	23.	24.		26.		29.	30.		01.	02.		05.	06.		08.	09.		12.		14.		16.		20.	
Inj.	F	F	F	SW	F	SW	F	SW	F	SW	F	F	F	F	SW	F	SW	F	SW	F	SW	F	SW	F	SW	SW	SW	SW	F	SW	
1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
3	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
4	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
5	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
6	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
7	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
8	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
9	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	2	2	2
10	2	2	2	1	2	1	2	2	2	2	2	2	2	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
11	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
12	2	2	2	1	2	1	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	1	2	2	2	2	1	2

Blau: keine Beurteilung, grün: keine Befunde, rosa: Score >1, Inj.: Injektion, F: Farbe, SW: Schwellung

Tab. 25: Befunde der täglichen Beurteilung der Injektionsstellen, 99.02, 1. bis 2. Biopsie (1. Teil)

	1. Biopsie 22.11.2018																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																						
	Nov. 2018															Dez. 2018																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																							
	23.		24.		25.		26.		27.		28.		29.		30.			01.			02.			03.		04.			05.			06.			07.					10.			11.			12.						14.																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																			
Inj.	F	SW	F	SW	F	SW	F	SW	F	SW	F	SW	F	SW	F	T	SW	F	T	SW	F	T	SW	F	T	SW	F	T	SW	F	T	SW	F	T	SW	F				T	SW	F	T	SW	F	T	SW																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																								
1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	2	1	1	2	1	1	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1

Blau: keine Beurteilung, rosa: Score >1, Inj.: Injektion, F: Farbe, SW: Schwellung, T: Temperatur

Tab. 26: Befunde der täglichen Beurteilung der Injektionsstellen, 99.02, 1. bis 2. Biopsie (2. Teil)

	1. Biopsie 22.11.2018																																																			
	Dez. 2018																							Jan.2019																												
	17.				18.		19.		20.				21.					24.			25.			26.			27.		28.		02.		03.		04.			07.		08.		09.		10.		11.			14.		15.	
Inj.	F	T	SW	F	SW	F	SW	F	T	S	SW	F	T	S	SW	F	T	SW	F	T	SW	F	T	SW	F		F	SW	F	SW	F	SW		F	SW	F	SW	F	SW	F	SW	F	SW	F	SW							
1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		1	1	1	1	1	1	1		1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		
2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		1	1	1	1	1	1	1		1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		
3	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		1	1	1	1	1	1	1		1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		
4	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		1	1	1	1	1	1	1		1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		
5	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		1	1	1	1	1	1	1		1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		
6	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		1	1	1	1	1	1	1		1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		
7	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		1	1	1	1	1	1	1		1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		
8	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		1	1	1	1	1	1	1		1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		
9	2	2	3	2	2	2	2	2	2	2	3	2	2	2	3	2	2	2	2	2	2	2	2	2		2	2	2	2	2	2	2		2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2		
10	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		1	1	1	1	1	1	1		1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		
11	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		1	1	1	1	1	1	1		1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		
12	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		1	1	1	1	1	1	1		1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		

Blau: keine Beurteilung, grün: keine Befunde, rosa: Score >1, Inj.: Injektion, F: Farbe, S: Sekret, SW: Schwellung, T: Temperatur

Tab. 27: Befunde der täglichen Beurteilung der Injektionsstellen, 99.02, 2. Biopsie bis Euthanasie

	2. Biopsie 16.01.2019																				Euthanasie 07.03.2019															
	Jan. 2019														Feb. 2019										März 2019											
	17.		18.		19.		20.		21.		22.		23.		24.		25.		28.	29.		15.		18.	19.	20.		25.		27.	28.	01.		04.	05.	06.
Inj.	F	SW	F	SW	F	SW	F	SW	F	SW	F	SW	F	SW	F	SW	F		F	F		SW		SW	SW	SW		SW		SW	SW	SW		SW	SW	SW
1	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		1	1		1		1	1	1		1		1	1	1		1	1	1
2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		1	1		1		1	1	1		1		1	1	1		1	1	1
3	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2		2	2		1		1	1	1		1		1	1	1		1	1	1
4	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2		1	1		1		1	1	1		1		1	1	1		1	1	1
5	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		1	1		1		1	1	1		1		1	1	1		1	1	1
6	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		1	1		1		1	1	1		1		1	1	1		1	1	1
7	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	1	2	1	2	1	2		1	1		1		1	1	1		1		1	1	1		1	1	1
8	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		1	1		1		1	1	1		1		1	1	1		1	1	1
9	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2		1	1		1		1	1	1		1		1	1	1		1	1	1
10	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2		1	1		1		1	1	1		1		1	1	1		1	1	1
11	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		1	1		2		2	2	2		2		2	2	2		2	2	2
12	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		1	1		1		1	1	1		1		1	1	1		1	1	1

Blau: keine Beurteilung, grün: keine Befunde, rosa: Score >1, Inj.: Injektion, F: Farbe, SW: Schwellung

Tab. 28: Befunde der täglichen Beurteilung der Injektionsstellen, 99.03, OP bis 1. Biopsie

	OP 27.09.18																											
	Sept. 2018			Okt. 2018												Nov. 2018												
	28.	29.	30.	01.	02.	03.	04.	05.	22.	23.	24.	26.	29.	30.	01.	02.	05.	06.		08.		09.		12.		14.	16.	20.
Inj.	SW	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	SW	F	SW	F	SW	F	SW	F	SW	F	SW	SW	SW	SW	
1	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
2	2	1	1	1	1	1	1	1	2	2	2	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
3	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
4	2	1	1	1	1	1	1	1	2	2	2	2	2	1	2	1	1	1	2	1	2	1	2	1	1	1	1	
5	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
6	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	
7	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
8	2	2	2	2	2	2	2	2	1	1	1	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
9	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
10	2	1	1	1	2	2	2	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
11	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
12	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	

Blau: keine Beurteilung, grün: keine Befunde, rosa: Score >1, Inj.: Injektion, F: Farbe, SW: Schwellung

Tab. 29: Befunde der täglichen Beurteilung der Injektionsstellen, 99.03, 1. bis 2. Biopsie

	1. Biopsie 23.11.2018																																														
	Nov. 2018												Dez. 2018																Jan. 2019																		
	24.	25.	26.	27.		28.		29.		30.			01.			02.			03.		04.			06.		07.			10.	11.	12.		31.	02.	03.	04.			08.	09.	10.	11.		14.	15.	16.	
Inj.	F	F	F	F	SW	F	SW	F	SW	F	S	SW	F	T	S	SW	F	T	SW	F	SW	F	SW		F	SW	F	SW		F	F	F			F	F	F	F		F	F	SW	F				
1	2	2	2	2	1	2	1	2	1	2	1	1	2	1	1	1	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		1	2	2	2			2	2	2	2		2	1	1	2		
2	2	2	2	2	1	2	1	2	1	2	1	1	2	1	1	1	2	1	1	1	1	1	1	1	2	2	2	2	2		2	2	2	2			1	2	2	2		1	2	2	2		
3	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		1	1	1	1			1	1	1	1		1	1	1	1			
4	1	1	1	2	2	2	2	2	2	2	4	2	2	2	4	2	2	2	2	2	2	2	2	2	1	1	1	1		1	1	1	1			1	1	1	1		1	1	1	1			
5	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		1	1	1	1			1	1	1	1		1	1	1	1			
6	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		1	1	1	1			1	1	1	1		1	1	1	1			
7	2	2	2	2	1	2	1	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		1	1	1	1			1	1	1	1		1	1	1	1			
8	2	2	2	2	1	2	1	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		1	1	1	1			1	1	1	1		1	1	1	1			
9	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		1	1	1	1			1	1	1	1		1	1	1	1			
10	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		1	1	1	1			1	1	1	1		1	1	1	1			
11	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		1	1	1	1			1	1	1	1		1	1	1	1			
12	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		1	1	1	1			1	1	1	1		1	1	1	1			

Blau: keine Beurteilung, grün: keine Befunde, rosa: Score >1, Inj.: Injektion, F: Farbe, S: Sekret, SW: Schwellung, T: Temperatur

Blau: keine Beurteilung, grün: keine Befunde, rosa: Score >1, Inj.: Injektion, F: Farbe, S: Sekret, SW: Schwellung, T: Temperatur

Tab. 31: Befunde der täglichen Beurteilung der Injektionsstellen, 99.01

Injektions- stelle	Befund	Dauer der pathologischen Befunde (Tage)
1 (TI)	Farbe Score 2 Schwellung Score 2	27 (5 nach Biopsie) 3
2 (TI)	Farbe Score 2 Schwellung Score 2	20 (7 nach Biopsie) 10
3 (TI)	Farbe Score 2 Schwellung Score 2	13 (11 nach Biopsie) 8
4 (TI)	Farbe Score 2 Schwellung Score 2 Schwellung Score 3 Sekret Score 2 Temperatur Score 2	27 (18 nach OP, 9 nach Biopsie) 9 1 1 4
5 (TI)	keine	/
6 (TI)	keine	/
7 (RI)	Farbe Score 2	8 (nach Biopsie)
8 (RI)	Farbe Score 2	5 (nach Biopsie)
9 (RI)	Farbe Score 2	9 (nach Biopsie)
10 (RI)	Farbe Score 2	9 (nach Biopsie)
11 (RI)	keine	/
12 (RI)	keine	/

/: nicht vorhanden

Tab. 32: Befunde der täglichen Beurteilung der Injektionsstellen, 99.02

Injektions- stelle	Befund	Dauer der pathologischen Befunde (Tage)
1 (RI)	Farbe Score 2 Schwellung Score 2	12 (5 nach Biopsie) 1
2 (RI)	Farbe Score 2	5 (nach Biopsie)
3 (RI)	Farbe Score 2	11 (nach Biopsie)
4 (RI)	Farbe Score 2	8 (nach Biopsie)
5 (RI)	keine	/
6 (RI)	keine	/
7 (TI)	Farbe Score 2 Schwellung Score 2 Schwellung Score 3	20 (5 nach Biopsie) 17 1
8 (TI)	Farbe Score 2 Schwellung Score 2	15 (5 nach Biopsie) 5
9 (TI)	Farbe Score 2 Schwellung Score 2 Schwellung Score 3 Sekret Score 3	35 (8 nach Biopsie) 26 3 2
10 (TI)	Farbe Score 2 Schwellung Score 2	18 (8 nach Biopsie) 3
11 (TI)	Schwellung Score 2	11
12 (TI)	Farbe Score 2 Schwellung Score 2 Temperatur Score 2	27 26 6

/: nicht vorhanden

Tab. 33: Befunde der täglichen Beurteilung der Injektionsstellen, 99.03

Injektions- stelle	Befund	Dauer der pathologischen Befunde (Tage)
1 (TI)	Farbe Score 2 Schwellung Score 2	31 (9 nach Biopsie) 14 (1 nach OP)
2 (TI)	Farbe Score 2 Schwellung Score 2 Abszess: Farbe Score 2	27 (9 nach Biopsie) 4 (1 nach OP) 10 (nach Biopsie)
3 (TI)	Farbe Score 2 Farbe Score 3 Schwellung Score 2 Schwellung Score 3 Temperatur Score 2 Sekret Score 4 (Abszess)	16 (nach Biopsie) 2 (nach Biopsie) 12 11 (1 nach OP, 10 nach Biopsie) 4 (nach Biopsie) 5 (nach Biopsie)
4 (TI)	Farbe Score 2 Schwellung Score 2 Temperatur Score 2 (Abszess) Sekret Score 4 (Abszess)	26 (9 nach Biopsie) 9 (1 nach OP) 2 2
5 (TI)	Schwellung Score 2	1 (nach OP)
6 (TI)	Farbe Score 2 Schwellung Score 2	10 12 (1 nach OP)
7 (RI)	Farbe Score 2 Schwellung Score 2	6 (nach Biopsie) 1 (nach OP)
8 (RI)	Farbe Score 2 Schwellung Score 2	14 (7 nach OP, 6 nach Biopsie) 1 (nach OP)
9 (RI)	Farbe Score 2 Schwellung Score 2	9 (nach Biopsie) 1 (nach OP)
10 (RI)	Farbe Score 2 Schwellung Score 2	12 (8 nach Biopsie) 1 (nach OP)
11 (RI)	Schwellung Score 2	1 (nach OP)
12 (RI)	Schwellung Score 2	1 (nach OP)

Tab. 34: Ergebnisse der Ultraschall-Messungen (in mm), 99.01

			t0			t1m			t2m			t3m			t4m			t5m			t6m		
Injektions- stelle	Material	Form	cc	vd	lm	cc	vd	lm	cc	vd	lm	cc	vd	lm	cc	vd	lm	cc	vd	lm	cc	vd	lm
1	TI	Bolus	17.7	5.8	21.3	18.8	10.1	27.3	16.2	11.2	14.6	13.7	5.9	18.9	7.6	3.8	19.8	7.3	3.1	8.1	16.3	6.9	12.4
2	TI	Stern	9.7	2.8	/	10	6.9	14.4	7.8	5.7	8.2	12	7.4	9.7	20.1	7	11	13.5	6.8	11.6	13	4.7	6.4
3	TI	Bolus	/	/	/	11.9	10.9	23.5	18.8	10.1	21.9	20.2	11.9	19.1	22.7	10.6	19.9	25.7	11.1	19.1	14	5.3	13
4	TI	Stern	/	/	/	5.8	3.9	10.5	8	3.7	10.9	12.3	3.5	9.8	6.5	3.3	7.4	12.4	5.3	9	14.8	4.9	10
5	TI	Bolus	/	/	/	16.4	13.7	20.3	18.2	11.4	20.6	19.4	12.2	20.9	20.5	10.9	20	22.5	10.6	19.1	21.5	10.2	19
6	TI	Stern	/	/	/	16	8	14.8	15.5	8	13.9	14.8	8.4	16	15.4	7.8	15	13.2	7.5	16.6	13.8	7.8	13.5
7	RI	Bolus	21.4	15.8	31.9	27.6	17.6	28.1	17.5	15.1	29.1	13	9.1	20.3	10.2	3.3	13	11	9.5	16.1	12.4	7.3	11.4
8	RI	Stern	/	/	/	9.7	6.4	8.6	11.2	8.8	11.2	6.6	6.1	6.9	11.7	5.5	9.9	12.2	4	10.3	13	6.3	11.5
9	RI	Bolus	/	/	/	10.2	7.8	6.7	35.9	9.3	24.7	12	7.9	13	12.9*	6.5	12.1	14.3	4.6	15.1	14.3	5.4	12.7
10	RI	Stern	/	/	/	10.5	8	10	7.5	7.1	14.7	10.2	7.4	10.1	9.3	4.8	8.4	11.2	5.1	13.8	14.8	6.3	13.8
11	RI	Bolus	/	/	/	5.7	8.5	32.5	11.1	12.7	24.4	/	3.7	8.8	15.4	6.7	12.2	18.3	7.2	13.6	21.6	7	13.5
12	RI	Stern	/	/	/	15.8	6.3	19.2	4.6	4.8	6.6	17.4	4.2	7.7	8.4	4.3	7.8	14.9	4	8.2	9.1	4.5	10.6

t: Zeitpunkt, m: Monate, cc: kraniokaudal, vd: ventrodorsal, lm: lateromedial, /: kein Wert vorhanden

Tab. 35: Ergebnisse der Ultraschall-Messungen (in mm), 99.02

Injektions- stelle	Material	Form	t0			t1m			t2m			t3m			t4m			t5m			t6m		
			cc	vd	lm	cc	vd	lm	cc	vd	lm	cc	vd	lm	cc	vd	lm	cc	vd	lm	cc	vd	lm
1	RI	Bolus	18.4	12.3	27.1	25.1	15.4	21.3	22.3	9.7	24	18.7	11.3	18.7	21.3	7.6	17.2	17.9	4.5	9.7	27	11.3	25.1
2	RI	Stern	8.2	6.7	8.7	12.9	8.3	10.7	8.1	6.1	8.3	6.3	4	6.5	7	2.9	6.6	9.9	2.8	9.4	11.1	4.1	10.9
3	RI	Bolus	31	11.2	18	29.8	16.6	23.3	32.5	10.1	25	14.7	8.3	20	22.9	8.6	25.2	11.1	10.8	12.4*	19.1	10.4	23.2
4	RI	Stern	12	8.9	10.2	15.9	9.4	24.4	6	4.7	9.4	8.3	3.9	4.2	/	3.3	7.5	6.6	6.5	7.5	4.7	3	4.6
5	RI	Bolus	16.7	16.5	/	29.4	9.2	17.9	17	7.4	18	/	6.1	16.6	21.2	5.3	/	/	3.7	9.1	28.4	6.4	13.1
6	RI	Stern	5.1	7.5	13.5	15.6	6.2	8.2	6.4	3.8	8.8	13.1	5.1	9.2	7.4	4.3	12.3	6.7	5.4	5.6	13.4	3.6	9.2
7	TI	Bolus	16.9	8.1	15.7	23	13.4	23.3	24.1	11.7	23.7	25.6	11.9	25.2	28.8	10	24.5	20.9	5.3	24.6	19.9	6.1	26.7
8	TI	Stern	4.4	3.6	10.4	19.6	10.9	26.7	15.7	6.8	10	13.1	7.2	20	9.3	4.6	5.7	11.7	6.1	9.6	8.6	6.6	4.9
9	TI	Bolus	16.7	11.4	14.5	22.4	14.9	22.1	26.3	11.7	23.3	27	13.5	25.2	17.4	4.5	13.7	15.1	7.1	20.5	15	4.6	15.2
10	TI	Stern	4.6	4.6	5.3	19.8	10.5	19.6	12.9	8	12.7	13.6	8.5	13.5	14.2	7.9	14.2	13.5	6.6	12.4	11.7	3.3	9.9
11	TI	Bolus	18.7	5.7	22.4	21.4	14.3	27.8	21.8	13.5	21.6	21.9	14.1	22	21	12.6	21.8	21.1	13.1	19.8	23.1	11.7	22
12	TI	Stern	18	4.8	/	20.5	13.8	26.7	14.6	9.3	14.8	9.7	3.8	11.6	8.5	4.8	7.5	6.9	5.1	9.4	17.9	5.8	8.3

t: Zeitpunkt, m: Monate, cc: kraniokaudal, vd: ventrodorsal, lm: lateromedial, /: kein Wert vorhanden

Tab. 36: Ergebnisse der Ultraschall-Messungen (in mm), 99.03

			t0			t1m			t2m			t3m			t4m			t5m			t6m		
Injektions- stelle	Material	Form	cc	vd	lm	cc	vd	lm	cc	vd	lm	cc	vd	lm	cc	vd	lm	cc	vd	lm	cc	vd	lm
1	TI	Bolus	28	9.3	12	37.9	12.5	23	21	13.8	20.6	22.2	13.2	22.2	23.9	13.4	24.3	19.4	6.3	19.3	19	9.4	18.3
2	TI	Stern	8.8	3.8	12.6	22.4	7.7	15.5	9.9	8.9	13.7	7.7	4.8	8.1	12.8	6.4	11.4	5.9	4.4	9.6	6.7	4.9	9.7
3	TI	Bolus	19.2	8.8	/	25.4	13.8	18.5	30.5	16.3	20.6	21.7	14.2	21	20.4	11.6	24.1	25.9	16.3	26.2	15.1	9.7	17.2
4	TI	Stern	9.2	4.2	5.3	27.8	9.1	19.4	13.5	10.8	18.7	18.4	3.9	11.9	13.3	5.1	9.6	14.9	4.6	11.5	6.5	3.8	9.3
5	TI	Bolus	18	10.5	31.3	20.7	12.3	29.9	18.6	15.4	20.9	20.3	15.7	22.9	21.6	13.2	21.9	20.1	12.6	21.6	18	11.8	21.4
6	TI	Stern	9.1	5.6	9.2	18.9	10.2	15.2	14.1	9.2	11.8	13.9	10.5	12.7	18.3	9.2	13.2	14.4	9.9	13.8	14.4	8.6	13.6
7	RI	Bolus	20.7	8.9	13.2	19.9	9.5	16.5	17.6	5.7	8	16.2	11.5	22.2	13.6	9.2	20.3	18.1	9	15.1	9.5	8.1	14.2
8	RI	Stern	4.4	3.3	5.7	11.6	8	11.6	6	5.7	/	11.6	6.8	6.7	7.2	4.3	8.5	11.8	8.2	9.3	6.4	4.9	4.8
9	RI	Bolus	21.3	12.8	24.1	31.6	15.4	34.7	18	9.3	14.5	15.6	9.3	23.8	16.1	4.4	7.7	18.3	6.7	23	13.8	11.2	19.2
10	RI	Stern	6	6.7	10.1	9.4	9.9	6.7	14.2	4.2	7	7.7	6	7.7	8.1	4.8	10.6	18.9	7.8	10.5	9.5	7	8.4
11	RI	Bolus	18.1	7.2	12.5	15.2	13.1	15.9	26.4	10.3	14.4	18.2	8.6	14	15.7	6.2	15.5	/	6.2	14.4	15.8	7.9	15.8
12	RI	Stern	5.8	7.2	14.4	29.6	14.8	11.7	7.6	5.1	8.8	13.8	7.9	12.6	14.7	6.3	13.5	16.8	5.3	11.9	15.1	8.3	12.5

t: Zeitpunkt, m: Monate, cc: kraniokaudal, vd: ventrodorsal, lm: lateromedial, /: kein Wert vorhanden

Tab. 37: Ergebnisse der histologischen Auswertung der Biopsien 2 Monate nach der Injektion, Bolus-Injektionen

	Evaluiertes Bereich:	Haut, Subkutis und Mammagewebe (Biopsie)					
	Test-Item:	Carboxymethylcellulose					
	Referenz-Item:	Radiesse®					
	Zeitpunkt:	2 Monate					
	Tier:	99.01	99.02	99.03	99.01	99.02	99.03
	Item:	Test-Item			Referenz-Item		
	Injektionsstelle:	Injektion 1 Bolus	Injektion 7 Bolus	Injektion 1 Bolus	Injektion 7 Bolus	Injektion 1 Bolus	Injektion 7 Bolus
Biokompatibilität	1. Entzündung						
	Polymorphkernige Zellen	0	2	NA	0	0	0
	Eosinophile	0	1	NA	0	0	0
	Lymphozyten	1	3	NA	0	0	0
	Plasmazellen	0	3	NA	0	0	0
	Makrophagen	3	3	NA	3	3	3
	Riesenzellen	2	2	NA	3	3	3
	Nekrose (Mineralisation)	0	3*	NA	0	0	0
	SUB-TOTAL	6	14	0	6	6	6
	SUB-TOTAL (x2)	12	28	0	12	12	12
	2. Gewebereaktion						
	Neovaskularisation	2	2	NA	2	2	1
	Fibrose	3	3	NA	1	1	1
	F.2 SUB-TOTAL	5	5	0	3	3	2
	TOTAL (1.+2.)	17	33	0	15	15	14
	GRUPPEN TOTAL	50			44		
	Durchschnitt (Ø)	25.0			14.7		
	Ø TI - Ø RI ¹	10.3					
Zusätzliche Befunde/ Materialparameter	Granulombildung	0	1	NA	0	0	0
	Fremdmaterial (implantiertes Material)	3	3	NA	2	2	2
	Menge und Verteilung des Fremdmaterials (wenn vorhanden)	3	3*	NA	3	3	3
	Anzahl der untersuchten Schnitte	1	1	1	1	1	1

NA: nicht auswertbar, * Material auf Granulom beschränkt, ¹ Bestimmung des Reaktionsgrades, negative Differenzen werden als 0 dokumentiert

Tab. 38: Ergebnisse der histologischen Auswertung der Biopsien 2 Monate nach der Injektion, Stern-Injektionen

		Evaluierter Bereich:		Haut, Subkutis und Mammagewebe (Biopsie)			
		Test-Item:		Carboxymethylcellulose			
		Referenz-Item:		Radiesse®			
		Zeitpunkt:		2 Monate			
Tier:		99.01	99.02	99.03	99.01	99.02	99.03
Item:		Test-Item			Referenz-Item		
Injektionsstelle:		Injektion 2 Stern	Injektion 8 Stern	Injektion 2 Stern	Injektion 8 Stern	Injektion 2 Stern	Injektion 8 Stern
Biokompatibilität	1. Entzündung						
	Polymorphkernige Zellen	0	2	2	0	0	0
	Eosinophile	0	1	1	0	0	0
	Lymphozyten	1	3	3	0	0	0
	Plasmazellen	0	3	3	0	0	0
	Makrophagen	2	3	3	3	3	4
	Riesenzellen	1	2	2	3	3	3
	Nekrose (Mineralisation)	1	3*	3*	0	0	0
	SUB-TOTAL	5	14	14	6	6	7
	SUB-TOTAL (x2)	10	28	28	12	12	14
	2. Gewebereaktion						
	Neovaskularisation	2	2	2	2	1	1
	Fibrose	2	3	3	1	1	1
	F.2 SUB-TOTAL	4	5	5	3	2	2
	TOTAL (1.+2.)	14	33	33	15	14	16
	GRUPPEN TOTAL	80			45		
	Durchschnitt (Ø)	26.7			15.0		
	Ø TI - Ø RI ¹	11.7					
Zusätzliche Befunde/ Materialparameter	Granulombildung	0	1	1	0	0	0
	Fremdmaterial (implantiertes Material)	3	3	3	2	2	2
	Menge und Verteilung des Fremdmaterials (wenn vorhanden)	3	3*	3*	3	3	3
	Anzahl der untersuchten Schnitte	1	1	1	1	1	1

* Material auf Granulom beschränkt, ¹ Bestimmung des Reaktionsgrades, negative Differenzen werden als 0 dokumentiert

Tab. 39: Ergebnisse der histologischen Auswertung der Biopsien 4 Monate nach der Injektion, Bolus-Injektionen

		Evaluierter Bereich:		Haut, Subkutis und Mammagewebe (Biopsie)				
		Test-Item:		Carboxymethylcellulose				
		Referenz-Item:		Radiesse®				
		Zeitpunkt:		4 Monate				
Tier:		99.01	99.02	99.03	99.01	99.02	99.03	
Item:		Test-Item			Referenz-Item			
Injektionsstelle:		Injektion 3 Bolus	Injektion 9 Bolus	Injektion 3 Bolus	Injektion 9 Bolus	Injektion 3 Bolus	Injektion 9 Bolus	
Biokompatibilität	1. Entzündung							
	Polymorphkernige Zellen	1	1	1	NA	NA	NA	
	Eosinophile	1	1	1	NA	NA	NA	
	Lymphozyten	2	1	2	NA	NA	NA	
	Plasmazellen	1	0	1	NA	NA	NA	
	Makrophagen	2	2	2	NA	NA	NA	
	Riesenzellen	1	1	1	NA	NA	NA	
	Nekrose (Mineralisation)	3*	0	3*	NA	NA	NA	
	SUB-TOTAL	8	6	8	0	0	0	
	SUB-TOTAL (x2)	16	12	16	0	0	0	
	2. Gewebereaktion							
	Neovaskularisation	2	3	2	NA	NA	NA	
	Fibrose	1	3	1	NA	NA	NA	
	F.2 SUB-TOTAL	3	6	3	0	0	0	
	TOTAL (1.+2.)	19	18	19	0	0	0	
	GRUPPEN TOTAL	56			NA			
	Durchschnitt (Ø)	18.7			NA			
	Ø TI - Ø RI ¹	NA						
	Zusätzliche Befunde/ Materialparameter	Granulombildung	1	0	1	NA	NA	NA
		Fremdmaterial (implantiertes Material)	3*	3	3*	NA	NA	NA
Menge und Verteilung des Fremdmaterials (wenn vorhanden)		3*	1	3*	NA	NA	NA	
Anzahl der untersuchten Schnitte		1	1	1	NA	NA	NA	

NA: nicht auswertbar, * Material auf Granulom beschränkt, ¹ Bestimmung des Reaktionsgrades, negative Differenzen werden als 0 dokumentiert

Tab. 40: Ergebnisse der histologischen Auswertung der Biopsien 4 Monate nach der Injektion, Stern-Injektionen

Evaluierte Bereich:		Haut, Subkutis und Mammagewebe (Biopsie)					
Test-Item:		Carboxymethylcellulose					
Referenz-Item:		Radiesse®					
Zeitpunkt:		4 Monate					
Tier:		99.01	99.02	99.03	99.01	99.02	99.03
Item:		Test-Item			Referenz-Item		
Injektionsstelle:		Injektion 4 Stern	Injektion 10 Stern	Injektion 4 Stern	Injektion 10 Stern	Injektion 4 Stern	Injektion 10 Stern
Biokompatibilität	1. Entzündung						
	Polymorphkernige Zellen	0	1	1	NA	NA	0
	Eosinophile	0	1	1	NA	NA	0
	Lymphozyten	1	3	2	NA	NA	0
	Plasmazellen	0	1	1	NA	NA	0
	Makrophagen	1	2	2	NA	NA	3
	Riesenzellen	0	1	1	NA	NA	3
	Nekrose (Mineralisation)	0	3*	3*	NA	NA	0
	SUB-TOTAL	2	9	8	0	0	6
	SUB-TOTAL (x2)	4	18	16	0	0	12
	2. Gewebereaktion						
	Neovaskularisation	2	3	2	NA	NA	1
	Fibrose	2	3	1	NA	NA	1
	F.2 SUB-TOTAL	4	6	3	0	0	2
	TOTAL (1.+2.)	8	24	19	0	0	14
	GRUPPEN TOTAL	51			14		
	Durchschnitt (Ø)	17.0			14.0		
	Ø TI - Ø RI ¹	3.0					
Zusätzliche Befunde/ Materialparameter	Granulombildung	0	1	1	NA	NA	0
	Fremdmaterial (implantiertes Material)	1**	3*	3*	NA	NA	2
	Menge und Verteilung des Fremdmaterials (wenn vorhanden)	1	3*	3*	NA	NA	3
	Anzahl der untersuchten Schnitte	1	1	1	NA	NA	1

NA: nicht auswertbar, * Material auf Granulom beschränkt, ¹ Bestimmung des Reaktionsgrades, negative Differenzen werden als 0 dokumentiert

Tab. 41: Ergebnisse der histologischen Auswertung der Biopsien 6 Monate nach der Injektion, Bolus-Injektionen

Evaluierter Bereich:		Haut, Subkutis und Mammagewebe																						
Test-Item:		Carboxymethylcellulose																						
Referenz-Item:		Radiesse®																						
Zeitpunkt:		6 Monate																						
Tier:	99.01				99.02				99.03				99.01				99.02				99.03			
Item:	Test-Item										Referenz-Item													
Injektionsstelle:	Injektion 1 Bolus	Injektion 3 Bolus	Injektion 5 Bolus	Injektion 7 Bolus	Injektion 9 Bolus	Injektion 11 Bolus	Injektion 1 Bolus	Injektion 3 Bolus	Injektion 5 Bolus	Injektion 7 Bolus	Injektion 9 Bolus	Injektion 11 Bolus	Injektion 1 Bolus	Injektion 3 Bolus	Injektion 5 Bolus	Injektion 7 Bolus	Injektion 9 Bolus	Injektion 11 Bolus						
Biokompatibilität	1. Entzündung																							
	Polymorphkernige Zellen	NA	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0					
	Eosinophile	NA	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0					
	Lymphozyten	NA	0	2	1	1	2	1	1	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0					
	Plasmazellen	NA	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0					
	Makrophagen	NA	3	2	1	2	2	1	1	2	3	3	4	4	3	3	3	2	3					
	Riesenzellen	NA	2	1	1	2	1	0	0	1	2	2	2	2	2	1	2	1	1					
	Nekrose (Mineralisation)	NA	0	3*	0	0	3*	0	0	3*	0	0	0	0	0	0	0	0	0					
	SUB-TOTAL	0	5	8	3	5	8	2	2	8	5	5	6	6	5	4	5	3	4					
	SUB-TOTAL (x2)	0	10	16	6	10	16	4	4	16	10	10	12	12	10	8	10	6	8					
	2. Gewebereaktion																							
	Neovaskularisation	NA	2	2	2	2	2	2	2	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1					
	Fibrose	NA	3	1	2	2	1	2	2	1	1	1	1	2	2	1	2	1	1					
	F.2 SUB-TOTAL	0	5	3	4	4	3	4	4	3	2	2	2	3	3	2	3	2	2					
	TOTAL (1.+2.)	0	15	19	10	14	19	8	8	19	12	12	14	15	13	10	13	8	10					
	GRUPPEN TOTAL	112										107												
	Durchschnitt (Ø)	12.4										11.9												
	Ø TI - Ø RI ¹	0.6																						
Zusätzliche Befunde/ Materialparameter	Granulombildung	NA	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0						
	Fremdmaterial (implantiertes Material)	NA	3	3*	2	2	3*	2	2	3*	2	2	2	2	2	2	2	2						
	Menge und Verteilung des Fremdmaterials (wenn vorhanden)	NA	2	3*	1	1	3*	1	1	3*	2	2	2	2	1	2	1	2						
	Anzahl der untersuchten Schnitte	3	2	1	1	1	1	2	1	1	2	1	2	2	1	2	1	1						

NA: nicht auswertbar, * Material auf Granulom beschränkt, ¹ Bestimmung des Reaktionsgrades, negative Differenzen werden als 0 dokumentiert

Tab. 42: Ergebnisse der histologischen Auswertung der Biopsien 6 Monate nach der Injektion, Stern-Injektionen

Evaluierter Bereich:		Haut, Subkutis und Mammagewebe																	
Test-Item:		Carboxymethylcellulose																	
Referenz-Item:		Radiesse®																	
Zeitpunkt:		6 Monate																	
Tier:	99.01			99.02			99.03			99.01			99.02			99.03			
Item:	Test-Item									Referenz-Item									
Injektionsstelle:	Injektion 2 Stern	Injektion 4 Stern	Injektion 6 Stern	Injektion 8 Stern	Injektion 10 Stern	Injektion 12 Stern	Injektion 2 Stern	Injektion 4 Stern	Injektion 6 Stern	Injektion 8 Stern	Injektion 10 Stern	Injektion 12 Stern	Injektion 2 Stern	Injektion 4 Stern	Injektion 6 Stern	Injektion 8 Stern	Injektion 10 Stern	Injektion 12 Stern	
Biokompatibilität	1. Entzündung																		
	Polymorphkernige Zellen	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Eosinophile	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Lymphozyten	0	0	2	1	1	0	1	1	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Plasmazellen	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Makrophagen	2	2	2	1	1	1	1	3	2	3	3	4	3	3	3	3	3	2
	Riesenzellen	1	2	1	0	0	0	0	1	1	2	2	2	1	1	1	1	2	1
	Nekrose (Mineralisation)	0	0	3*	0	0	0	0	0	3*	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	SUB-TOTAL	3	4	8	2	2	1	2	5	8	5	5	6	4	4	4	4	5	3
	SUB-TOTAL (x2)	6	8	16	4	4	2	4	10	16	10	10	12	8	8	8	8	10	6
	2. Gewebereaktion																		
	Neovaskularisation	2	2	2	2	2	2	2	2	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	Fibrose	2	3	1	2	2	2	2	2	1	1	1	1	1	1	1	1	2	1
	F.2 SUB-TOTAL	4	5	3	4	4	4	4	4	3	2	2	2	2	2	2	2	3	2
	TOTAL (1.+2.)	10	13	19	8	8	6	8	14	19	12	12	14	10	10	10	10	13	8
	GRUPPEN TOTAL	105									99								
	Durchschnitt (Ø)	11.7									11.0								
	Ø TI - Ø RI ¹	0.7																	
Zusätzliche Befunde/ Materialparameter	Granulombildung	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Fremdmaterial (implantiertes Material)	3	2	3*	2	2	2	2	2	3*	2	2	2	2	2	2	2	2	2
	Menge und Verteilung des Fremdmaterials (wenn vorhanden)	1	1	3*	1	1	1	1	2	3*	2	2	2	2	2	2	2	2	1
	Anzahl der untersuchten Schnitte	2	2	1	1	1	2	1	1	1	2	3	2	2	2	1	1	1	1

* Material auf Granulom beschränkt, ¹ Bestimmung des Reaktionsgrades, negative Differenzen werden als 0 dokumentiert

8.2 Abbildungen

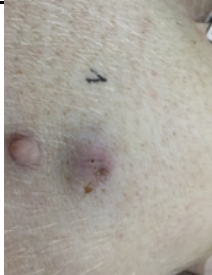












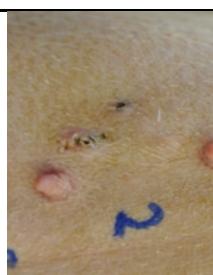
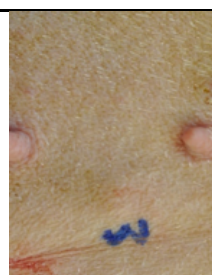



Zeitpunkt	Injektion 1	Injektion 2	Injektion 3	Injektion 4	Injektion 5	Injektion 6
1 Monat						
2 Monate						
3 Monate						

Abb. 1a: Fotos der Injektionsstellen (monatliche makroskopische Beurteilung), 99.01, Test-Item, Monat 1-3

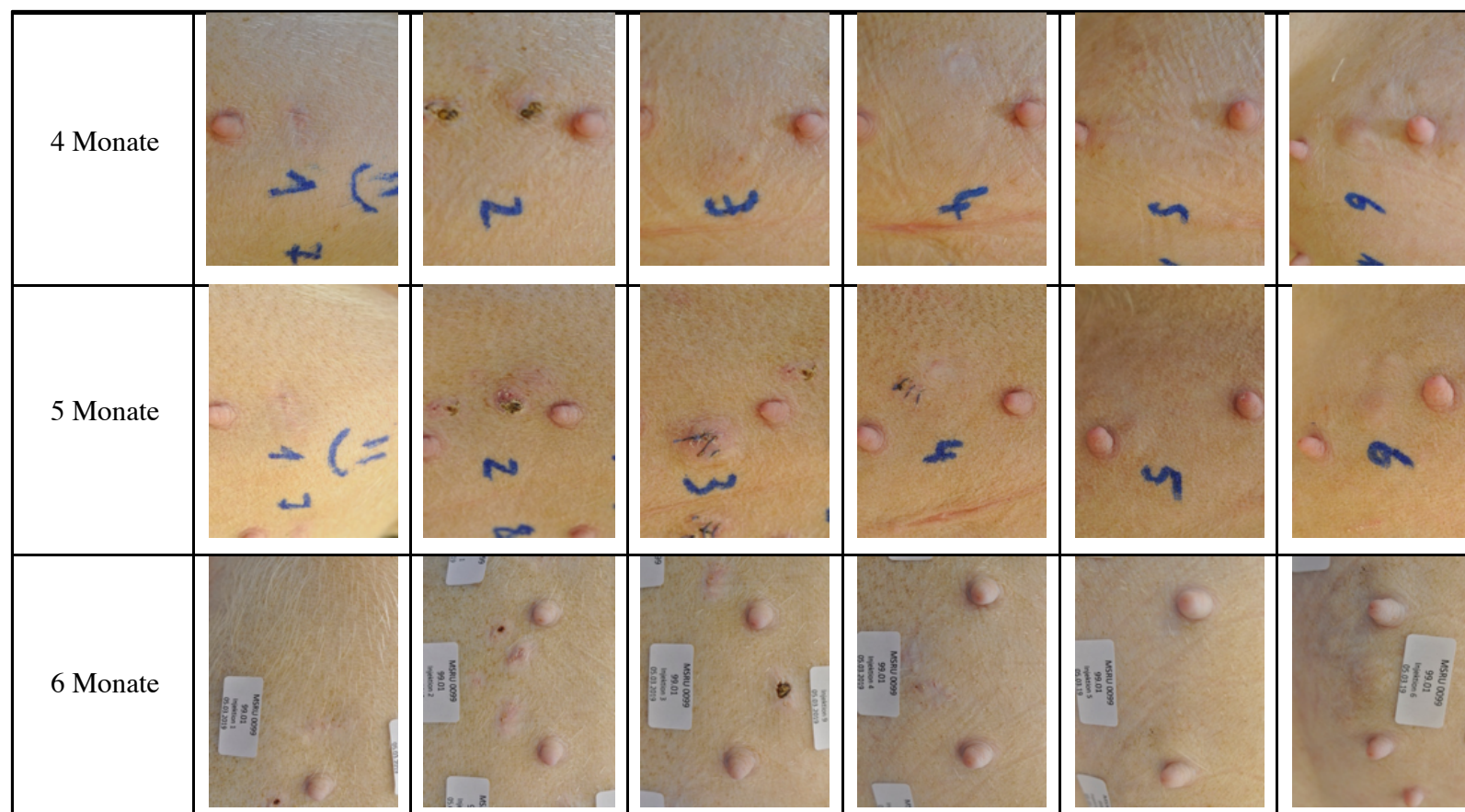


Abb. 1b: Fotos der Injektionsstellen (monatliche makroskopische Beurteilung), 99.01, Test-Item, Monat 4-6






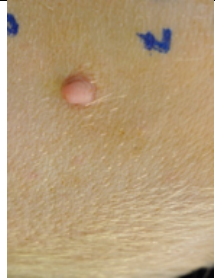

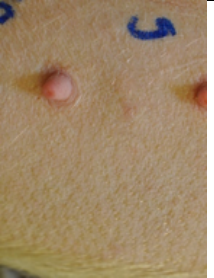


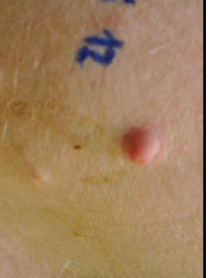


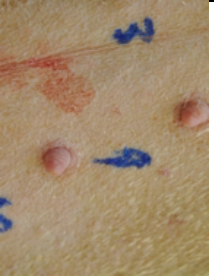
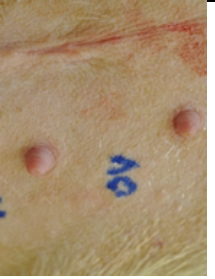


Zeitpunkt	Injektion 7	Injektion 8	Injektion 9	Injektion 10	Injektion 11	Injektion 12
1 Monat						*
2 Monate						
3 Monate						

Abb. 2a: Fotos der Injektionsstellen (monatliche makroskopische Beurteilung), 99.01, Referenz-Item, Monat 1-3; *: kein Bild vorhanden

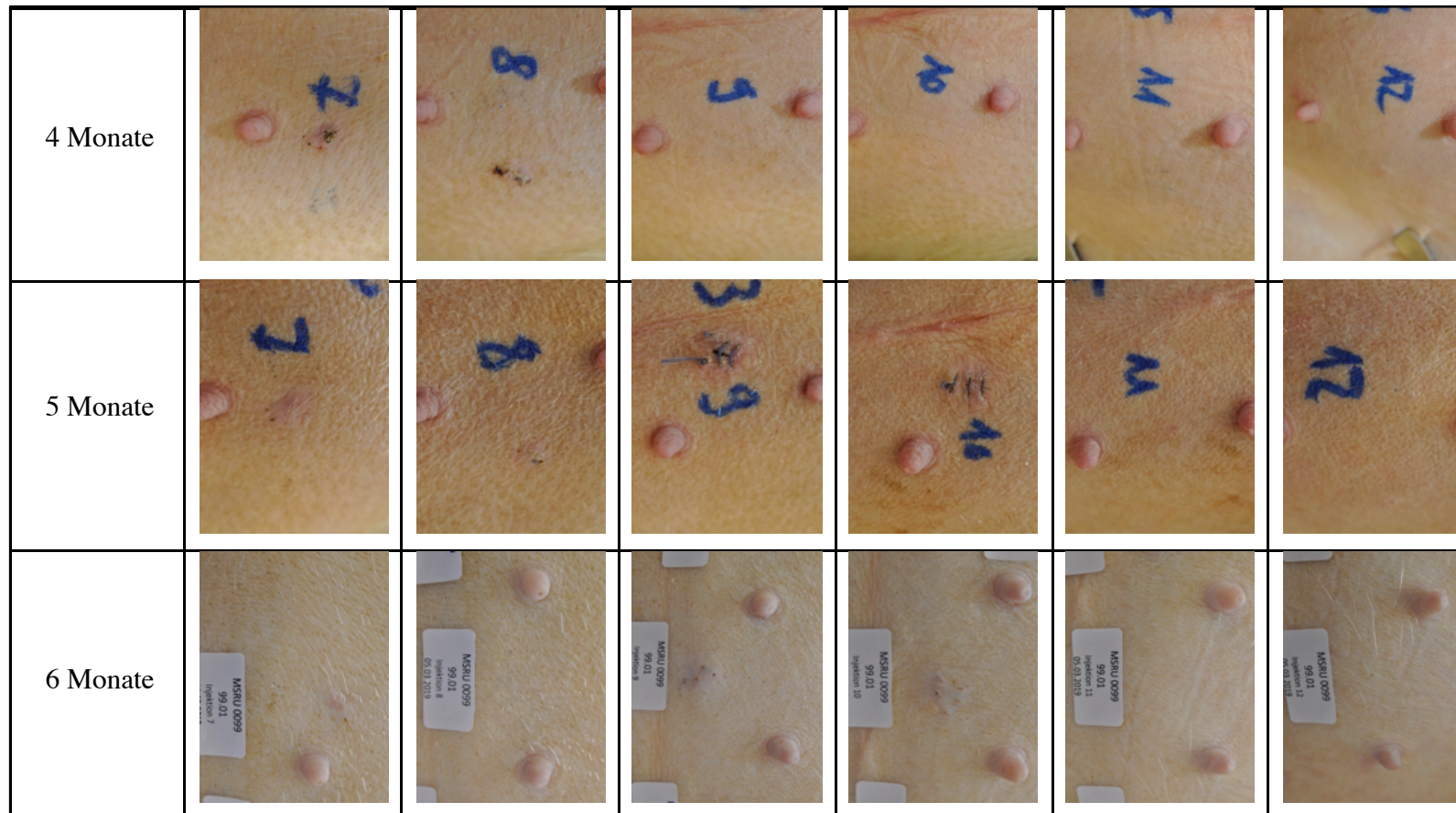


Abb. 2b: Fotos der Injektionsstellen (monatliche makroskopische Beurteilung), 99.01, Referenz-Item, Monat 4-6



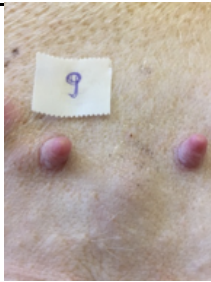









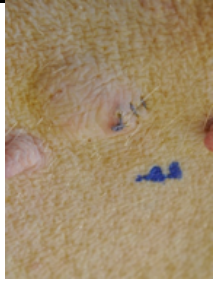
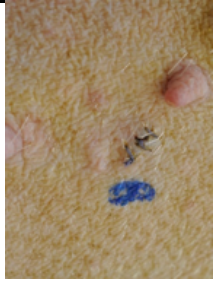


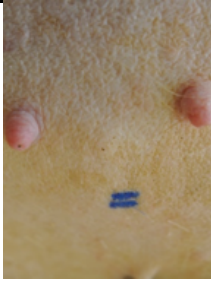

Zeitpunkt	Injektion 7	Injektion 8	Injektion 9	Injektion 10	Injektion 11	Injektion 12
1 Monat						
2 Monate						
3 Monate						

Abb. 3a: Fotos der Injektionsstellen (monatliche makroskopische Beurteilung), 99.02, Test-Item, Monat 1-3

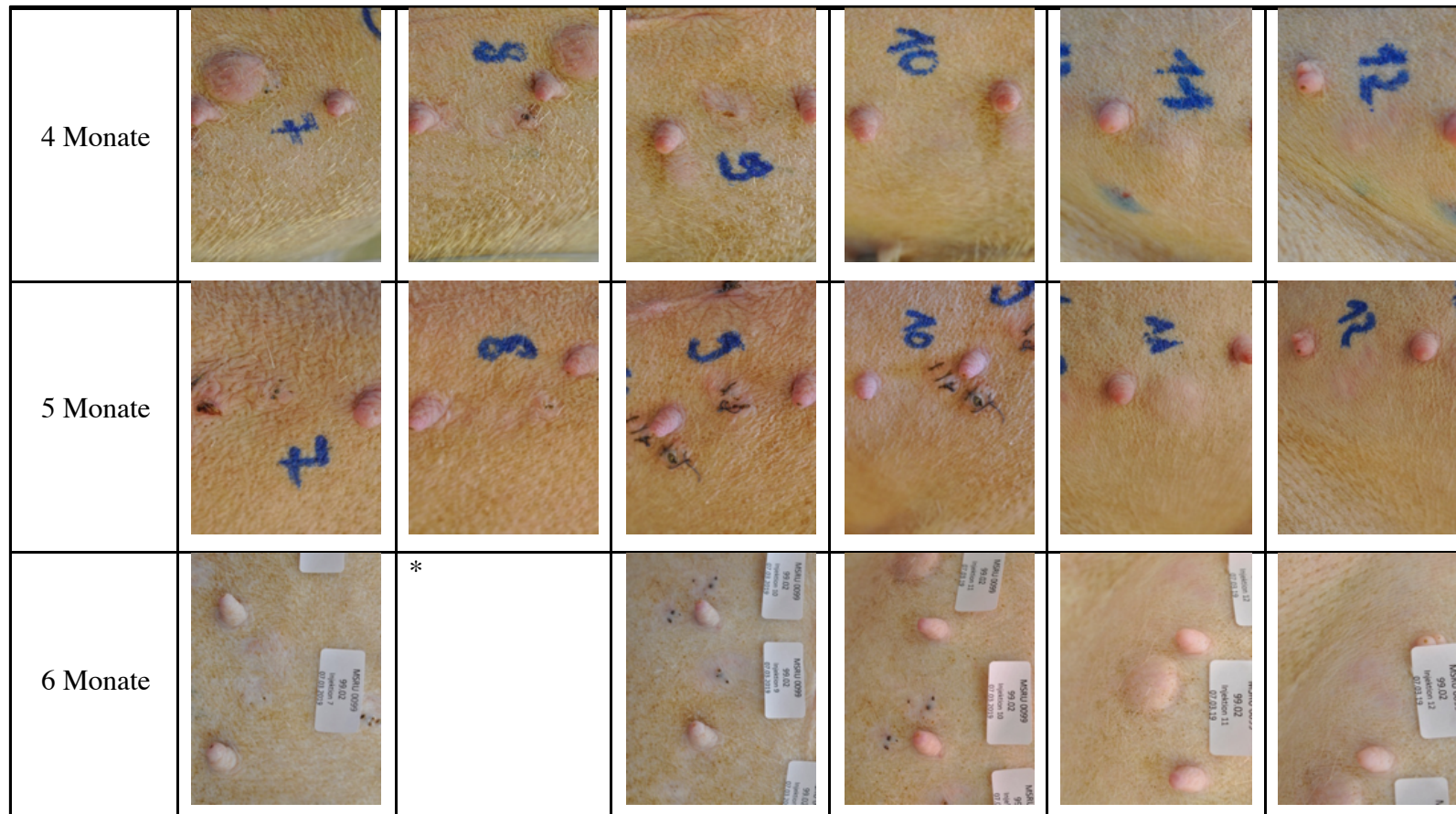


Abb. 3b: Fotos der Injektionsstellen (monatliche makroskopische Beurteilung), 99.02, Test-Item, Monat 4-6; *: kein Bild vorhanden

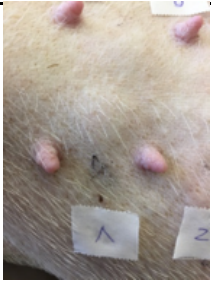










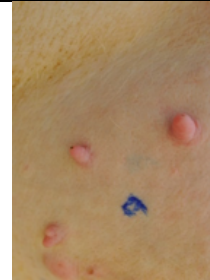
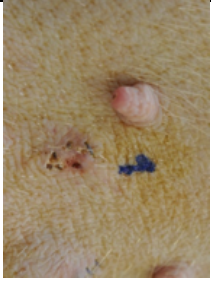




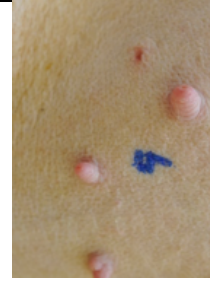
Zeitpunkt	Injektion 1	Injektion 2	Injektion 3	Injektion 4	Injektion 5	Injektion 6
1 Monat						
2 Monate						
3 Monate						

Abb. 4a: Fotos der Injektionsstellen (monatliche makroskopische Beurteilung), 99.02, Referenz-Item, Monat 1-3

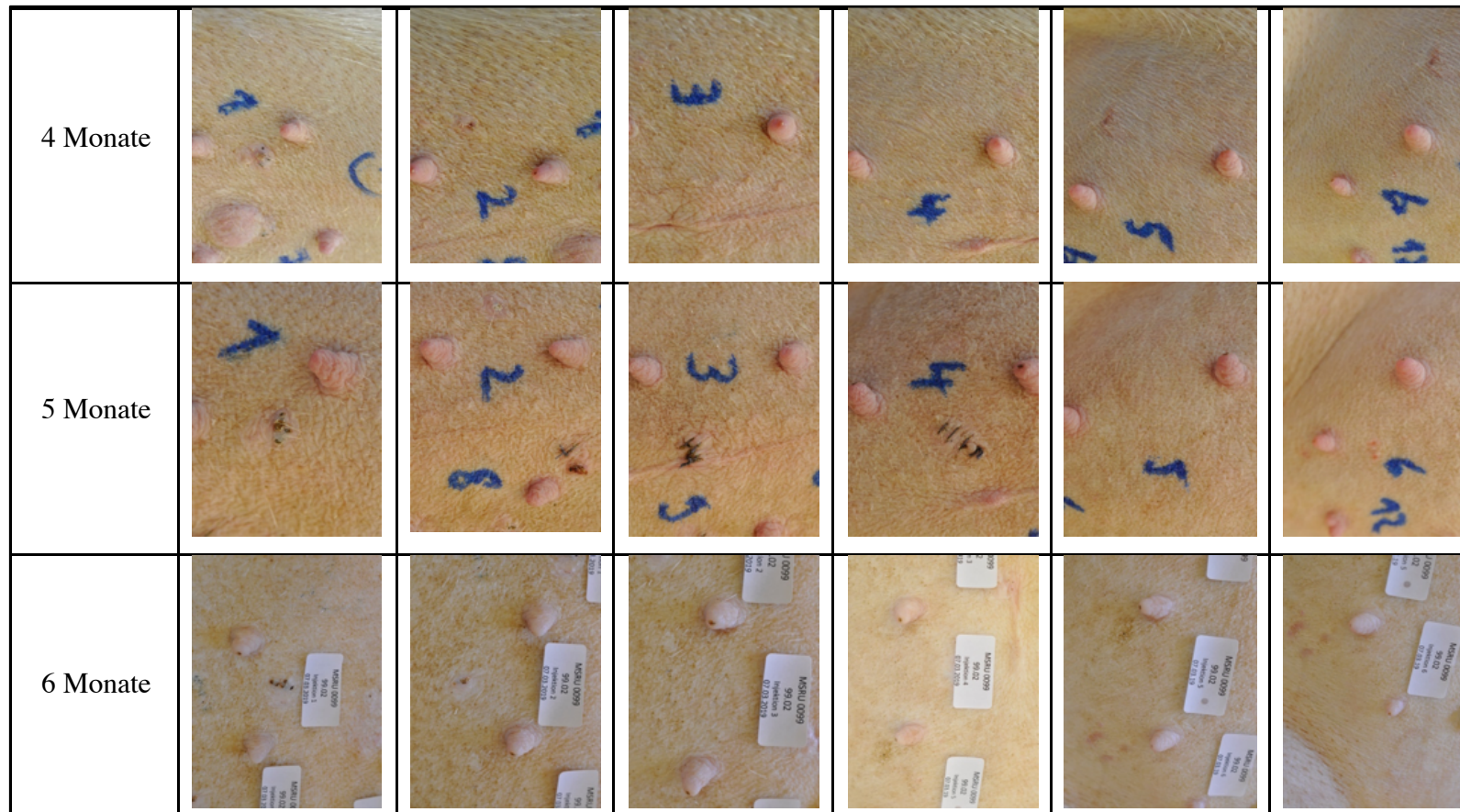


Abb. 4b: Fotos der Injektionsstellen (monatliche makroskopische Beurteilung), 99.02, Referenz-Item, Monat 4-6







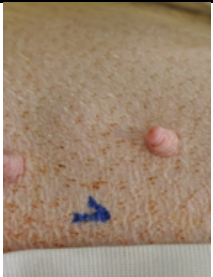


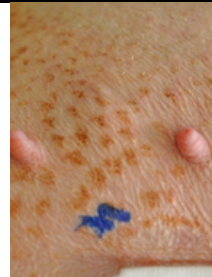


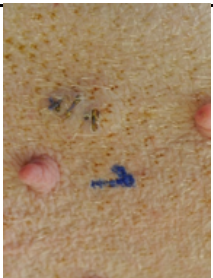




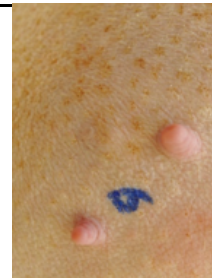
Zeitpunkt	Injektion 1	Injektion 2	Injektion 3	Injektion 4	Injektion 5	Injektion 6
1 Monat						
2 Monate						
3 Monate						

Abb. 5a: Fotos der Injektionsstellen (monatliche makroskopische Beurteilung), 99.03, Test-Item, Monat 1-3



Abb. 5b: Fotos der Injektionsstellen (monatliche makroskopische Beurteilung), 99.03, Test-Item, Monat 4-6



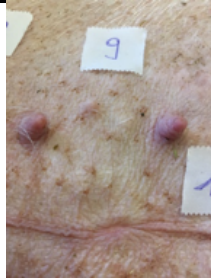



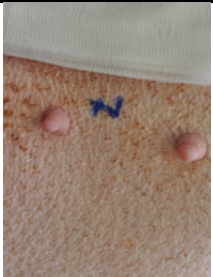



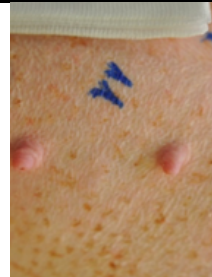







Zeitpunkt	Injektion 7	Injektion 8	Injektion 9	Injektion 10	Injektion 11	Injektion 12
1 Monat						
2 Monate						
3 Monate						

Abb. 6a: Fotos der Injektionsstellen (monatliche makroskopische Beurteilung), 99.03, Referenz-Item, Monat 1-3

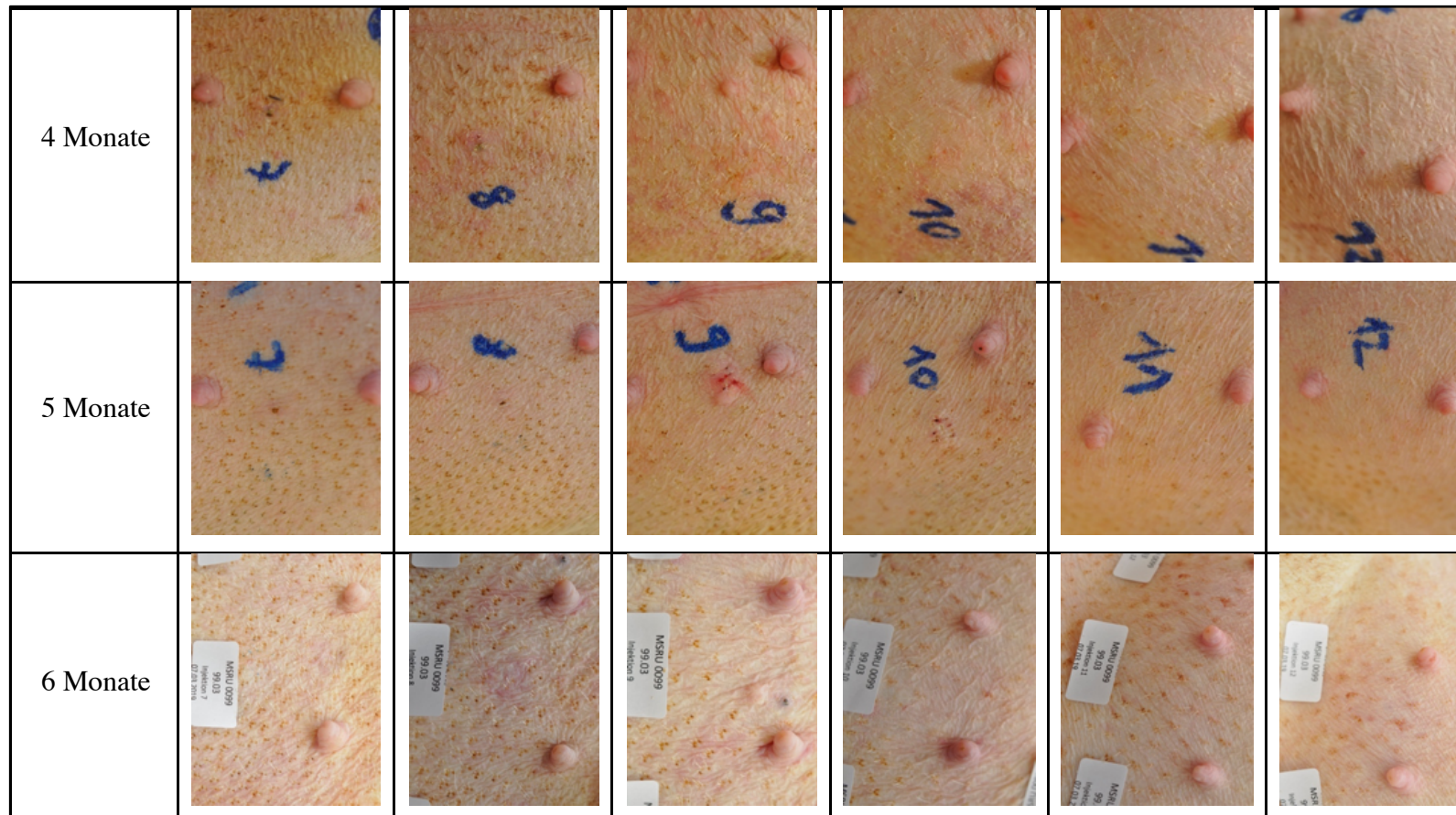


Abb. 6b: Fotos der Injektionsstellen (monatliche makroskopische Beurteilung), 99.03, Referenz-Item, Monat 4-6


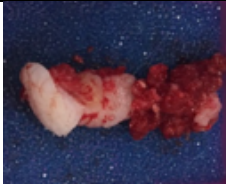
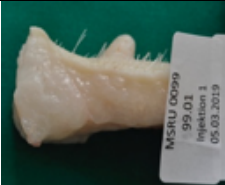





Zeitpunkt	Injektion 1	Injektion 2	Injektion 3	Injektion 4	Injektion 5	Injektion 6
2 Monate			/	/	/	/
6 Monate						

Abb. 7: Fotos der Biopsien/Gewebeprobe, 99.01, Test-Item; /: keine Biopsie entnommen

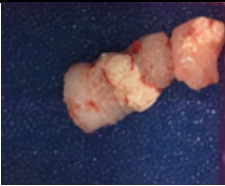
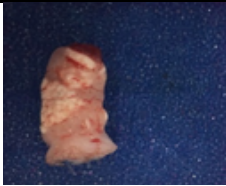






Zeitpunkt	Injektion 7	Injektion 8	Injektion 9	Injektion 10	Injektion 11	Injektion 12
2 Monate			/	/	/	/
6 Monate						

Abb. 8: Fotos der Biopsien/Gewebeprobe, 99.01, Referenz-Item; /: keine Biopsie entnommen

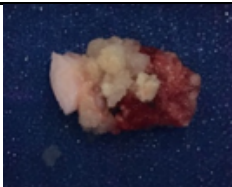






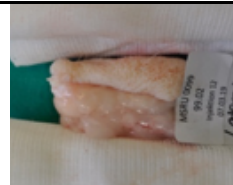
Zeitpunkt	Injektion 7	Injektion 8	Injektion 9	Injektion 10	Injektion 11	Injektion 12
2 Monate			/	/	/	/
6 Monate						

Abb. 9: Fotos der Biopsien/Gewebeproben, 99.02, Test-Item; /: keine Biopsie entnommen

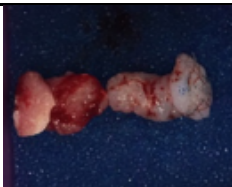
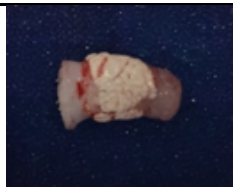




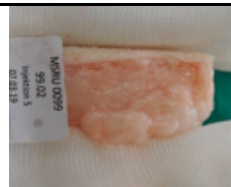
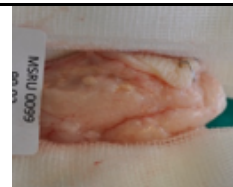
Zeitpunkt	Injektion 1	Injektion 2	Injektion 3	Injektion 4	Injektion 5	Injektion 6
2 Monate			/	/	/	/
6 Monate						

Abb. 10: Fotos der Biopsien/Gewebeproben, 99.02, Referenz-Item; /: keine Biopsie entnommen

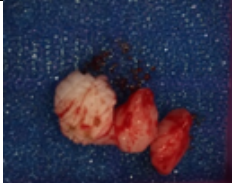







Zeitpunkt	Injektion 1	Injektion 2	Injektion 3	Injektion 4	Injektion 5	Injektion 6
2 Monate			/	/	/	/
6 Monate						

Abb. 11: Fotos der Biopsien/Gewebeproben, 99.03, Test-Item; /: keine Biopsie entnommen


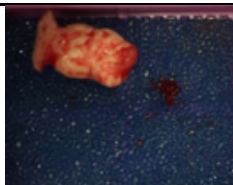






Zeitpunkt	Injektion 7	Injektion 8	Injektion 9	Injektion 10	Injektion 11	Injektion 12
2 Monate			/	/	/	/
6 Monate						

Abb. 12: Fotos der Biopsien/Gewebeproben, 99.03, Referenz-Item; /: keine Biopsie entnommen

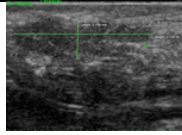
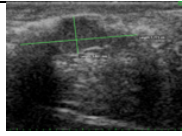
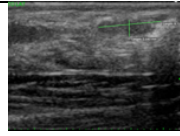

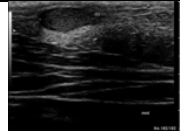
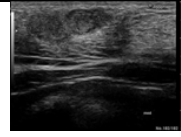
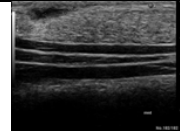
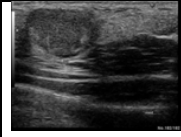

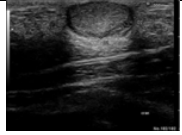
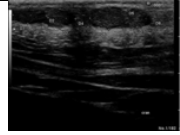
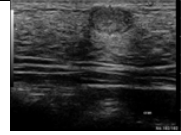
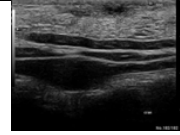
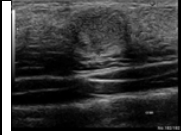
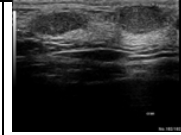
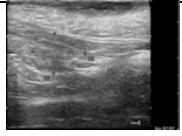
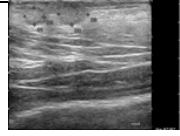
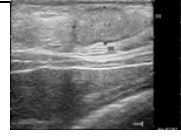
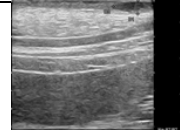
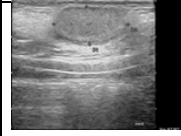
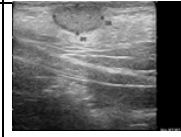
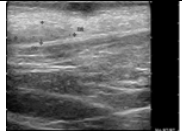
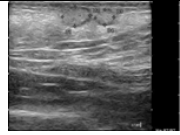
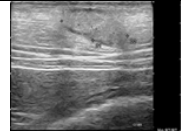
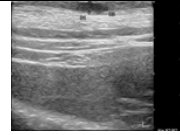
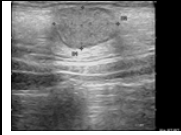
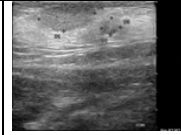
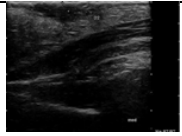
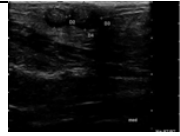

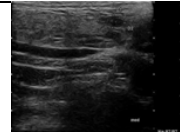
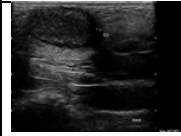
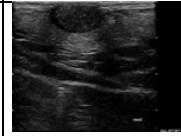
Zeitpunkt Schallrichtung	Injektion 1	Injektion 2	Injektion 3	Injektion 4	Injektion 5	Injektion 6
0 Monate kraniokaudal		*	*	*	*	*
0 Monate lateromedial			*	*	*	*
1 Monat kraniokaudal						
1 Monat lateromedial						
2 Monate kraniokaudal						
2 Monate lateromedial						
3 Monate kraniokaudal						

Abb. 13a: Bilder der Ultraschall-Untersuchung und Messungen, 99.01, Test-Item Monat 0-3; *: kein Bild vorhanden

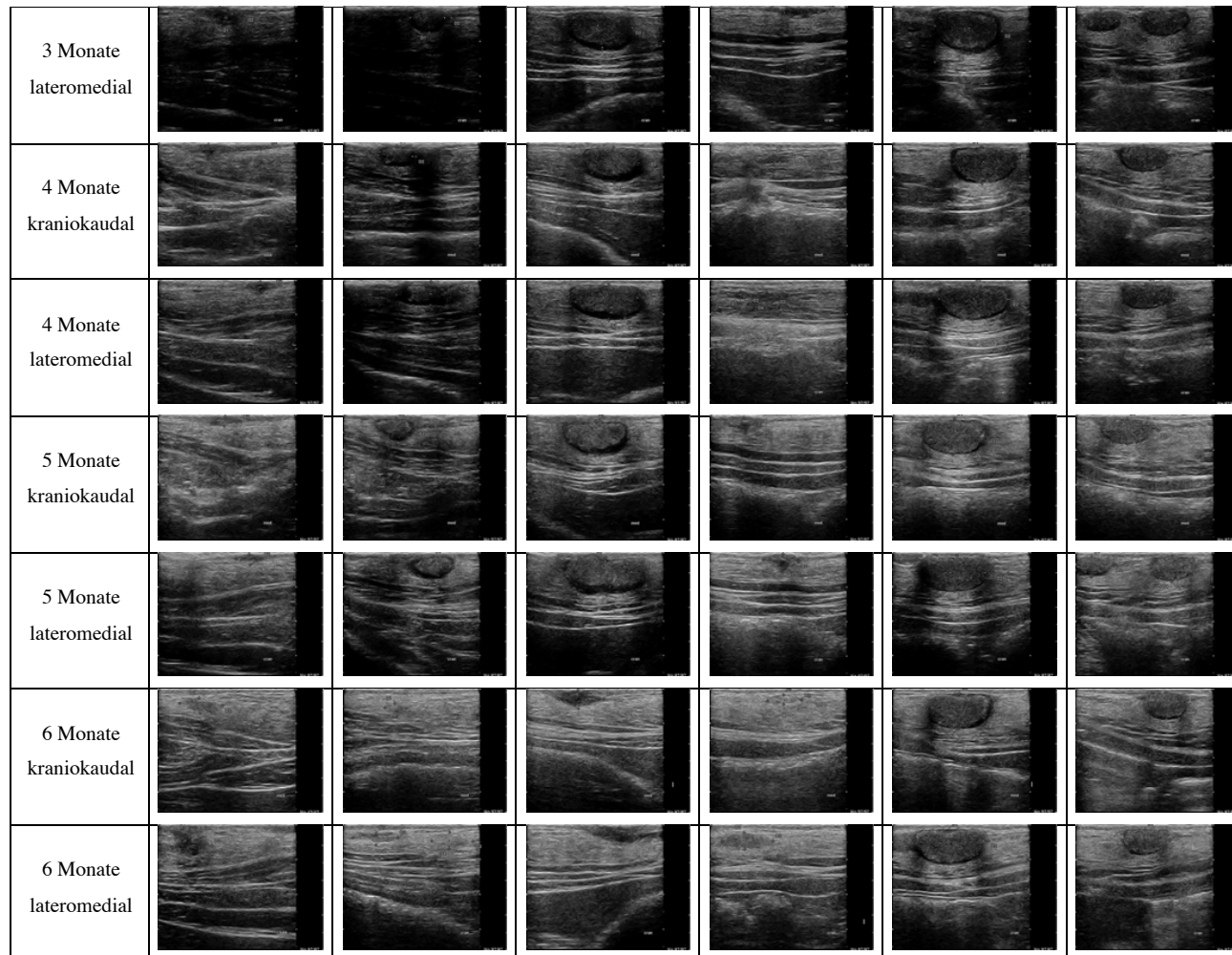


Abb. 13b: Bilder der Ultraschall-Untersuchung und Messungen, 99.01, Test-Item, Monat 3-6

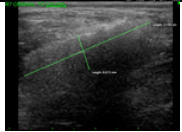
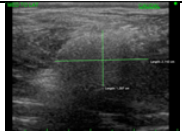
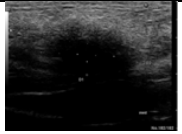
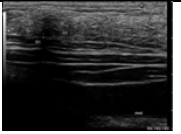
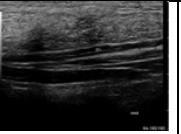
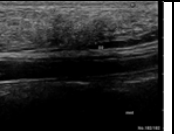
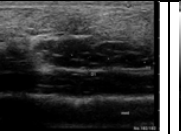
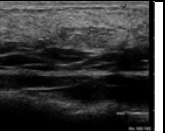
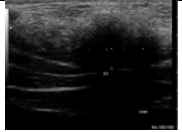
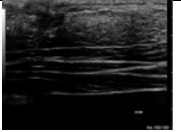
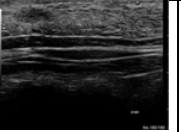
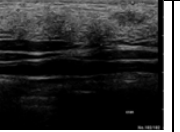
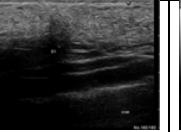
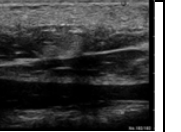
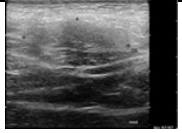
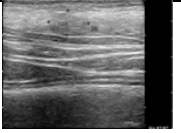
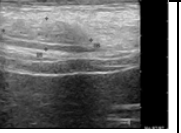
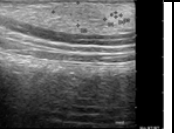
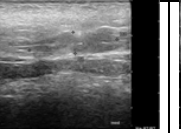
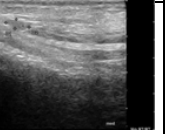
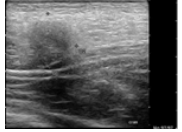
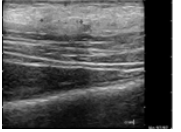
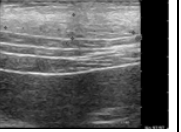
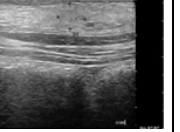
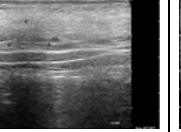
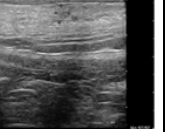
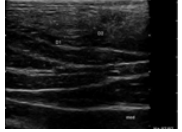
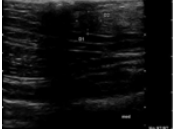
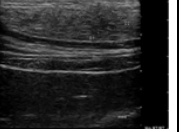
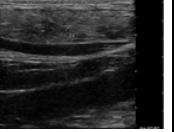
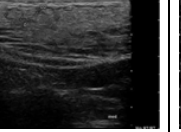
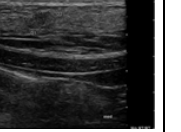
Zeitpunkt Schallrichtung	Injektion 7	Injektion 8	Injektion 9	Injektion 10	Injektion 11	Injektion 12
0 Monate kraniokaudal		*	*	*	*	*
0 Monate lateromedial		*	*	*	*	*
1 Monat kraniokaudal						
1 Monat lateromedial						
2 Monate kraniokaudal						
2 Monate lateromedial						
3 Monate kraniokaudal						

Abb. 14a: Bilder der Ultraschall-Untersuchung und Messungen, 99.01, Referenz-Item, Monat 0-3; *: kein Bild vorhanden

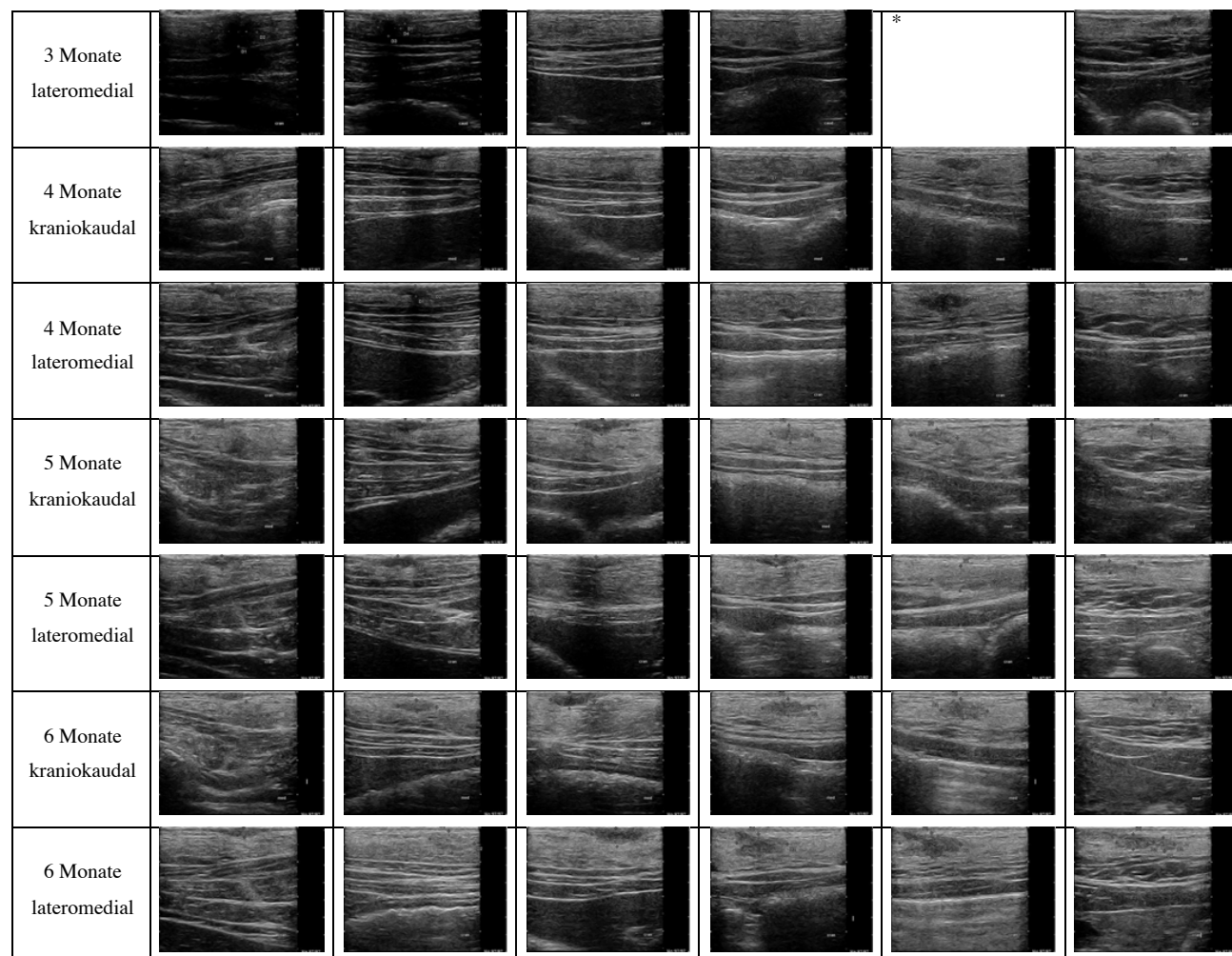


Abb. 14b: Bilder der Ultraschall-Untersuchung und Messungen, 99.01, Referenz-Item, Monat 3-6; *: kein Bild vorhanden

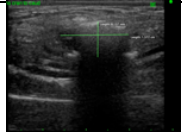
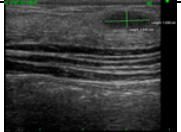
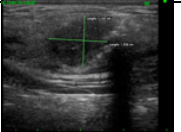
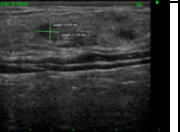
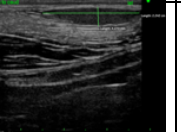
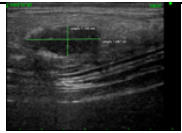
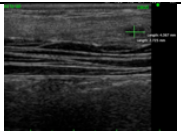
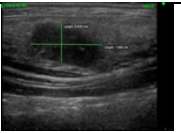
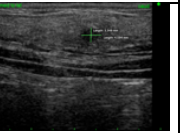
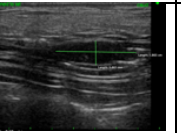
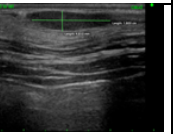
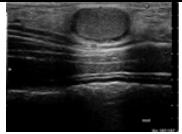
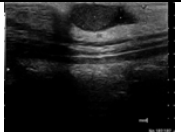
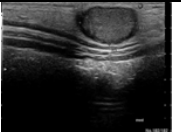
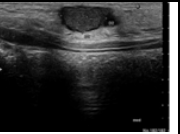
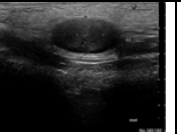
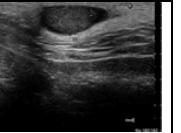
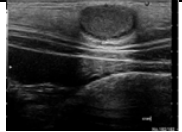
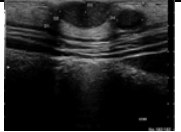
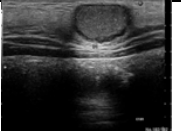
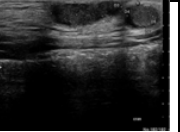
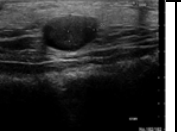
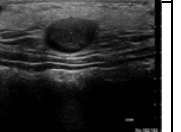
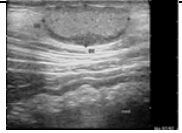
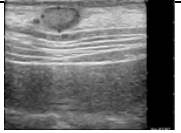
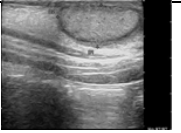
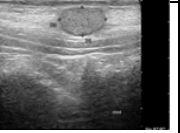
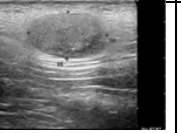
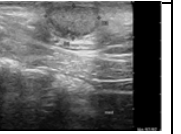
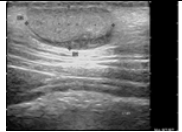
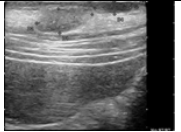
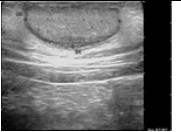
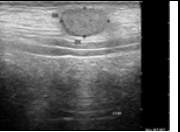

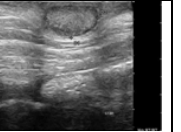
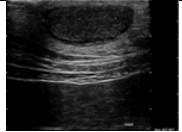
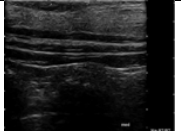
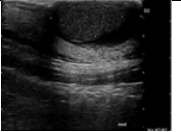
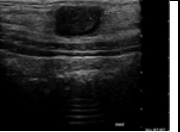
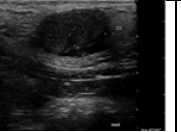
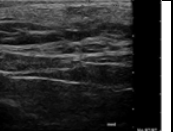
Zeitpunkt Schallrichtung	Injektion 7	Injektion 8	Injektion 9	Injektion 10	Injektion 11	Injektion 12
0 Monate kraniokaudal						*
0 Monate lateromedial						
1 Monat kraniokaudal						
1 Monat lateromedial						
2 Monate kraniokaudal						
2 Monate lateromedial						
3 Monate kraniokaudal						

Abb. 15a: Bilder der Ultraschall-Untersuchung und Messungen, 99.02, Test-Item, Monat 0-3; *: kein Bild vorhanden

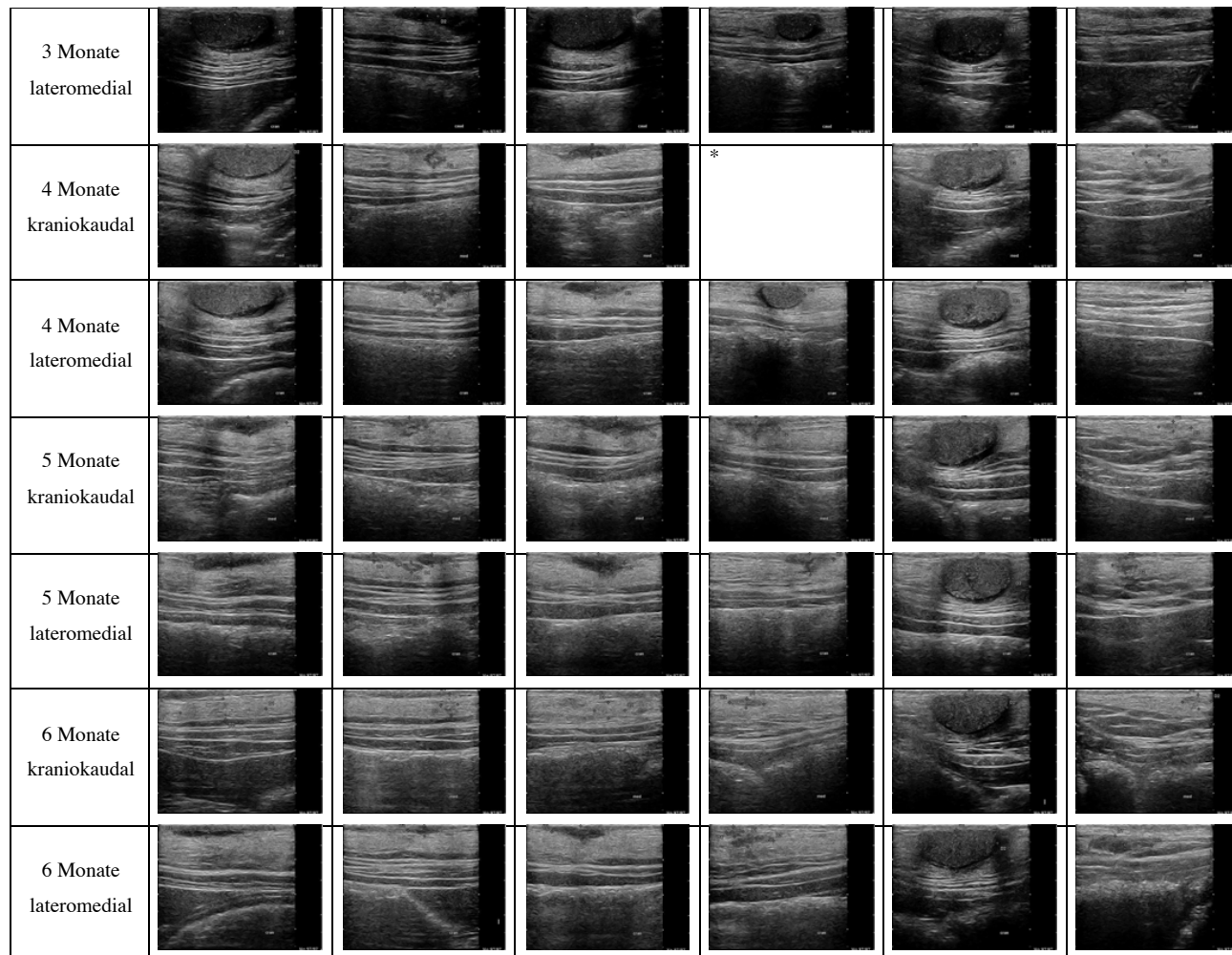


Abb. 15b: Bilder der Ultraschall-Untersuchung und Messungen, 99.02, Test-Item, Monat 3-6; *: kein Bild vorhanden

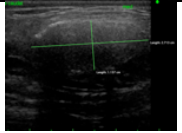
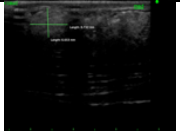
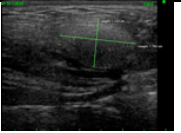
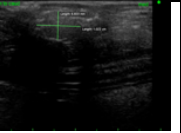
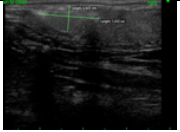
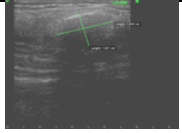
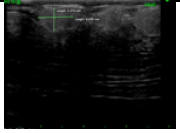
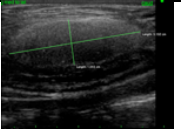
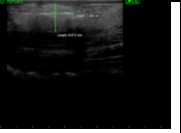
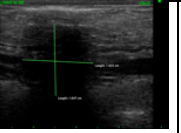
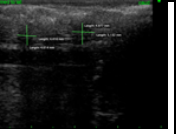
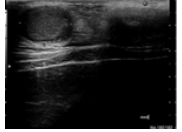
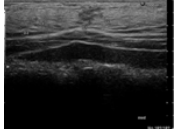
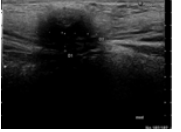
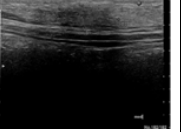
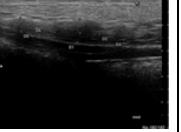
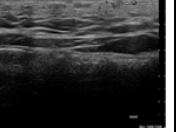
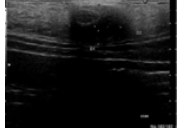
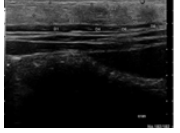
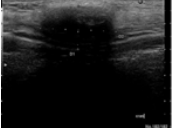
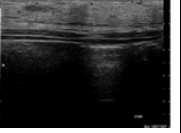
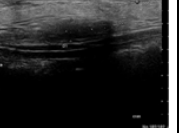
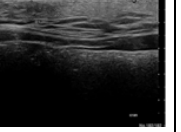
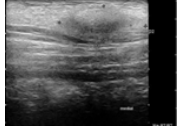
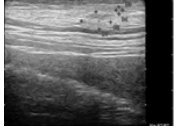

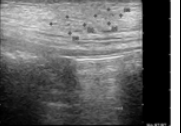
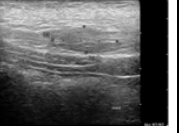

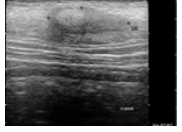
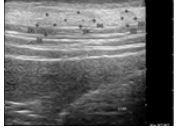
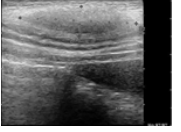
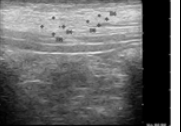
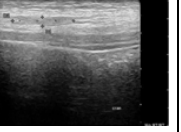
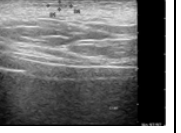
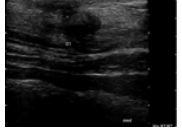
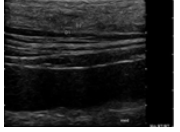

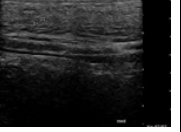
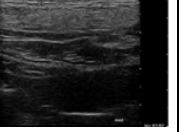
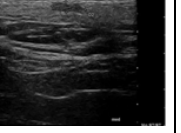
Zeitpunkt Schallrichtung	Injektion 1	Injektion 2	Injektion 3	Injektion 4	Injektion 5	Injektion 6
0 Monate kraniokaudal					*	
0 Monate lateromedial						
1 Monat kraniokaudal						
1 Monat lateromedial						
2 Monate kraniokaudal						
2 Monate lateromedial						
3 Monate kraniokaudal						

Abb. 16a: Bilder der Ultraschall-Untersuchung und Messungen, 99.02, Referenz-Item, Monat 0-3; *: kein Bild vorhanden

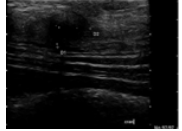
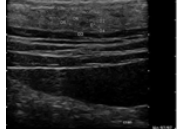
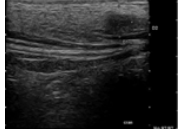
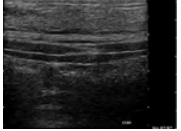
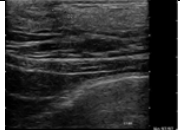
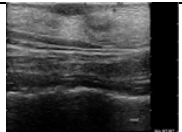
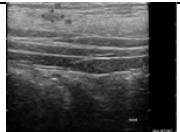
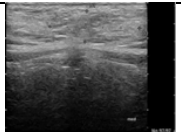
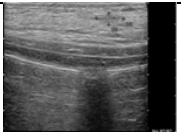
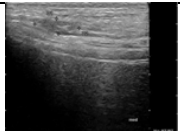
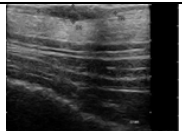
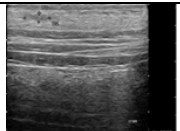
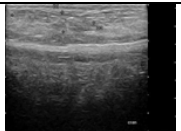
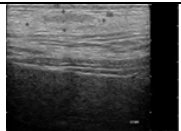
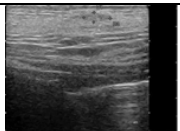
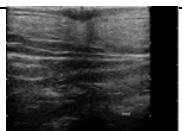
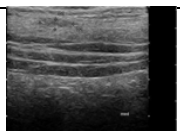
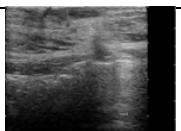
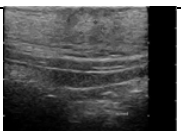
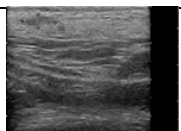
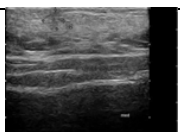
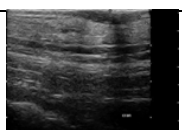
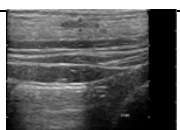
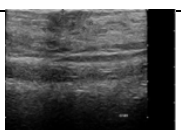
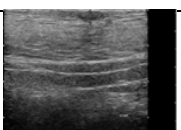
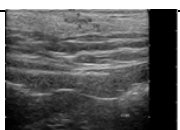
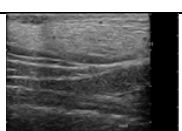
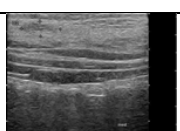
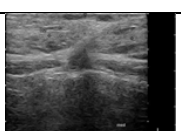
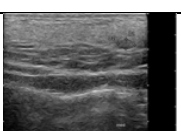
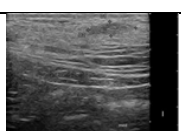
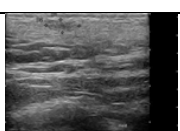
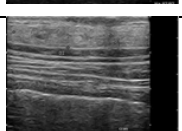
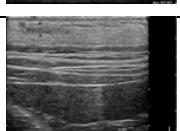
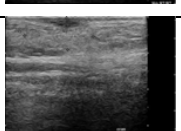
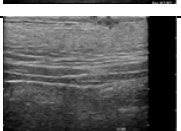
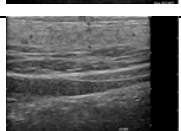
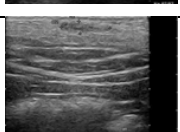
3 Monate lateromedial					*	
4 Monate kraniokaudal					*	
4 Monate lateromedial				*		
5 Monate kraniokaudal						
5 Monate lateromedial					*	
6 Monate kraniokaudal						
6 Monate lateromedial						

Abb. 16b: Bilder der Ultraschall-Untersuchung und Messungen, 99.02, Referenz-Item, Monat 3-6; *: kein Bild vorhanden

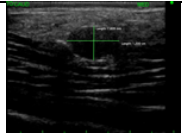
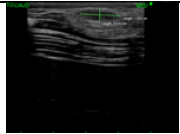
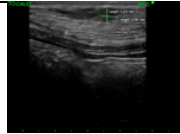
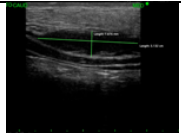
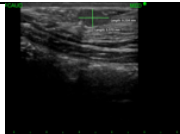
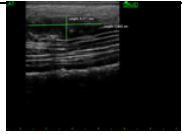
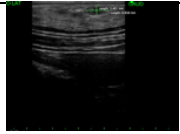
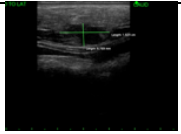
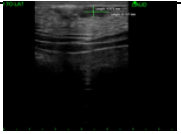
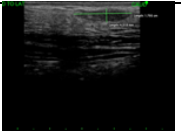
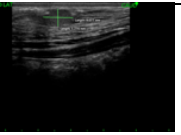
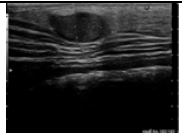
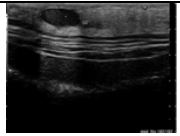
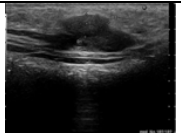
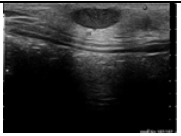
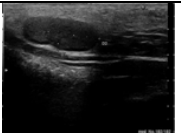
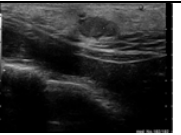
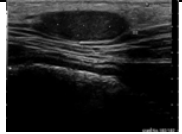
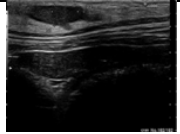
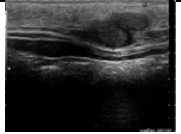
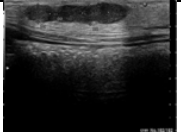
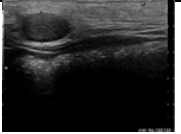
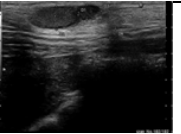
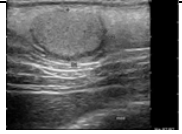
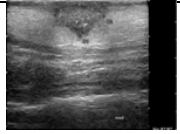
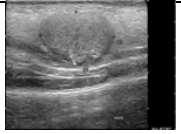
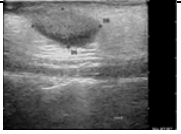
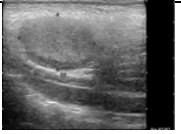
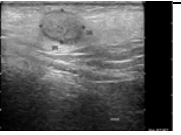
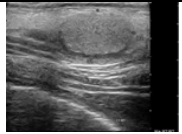
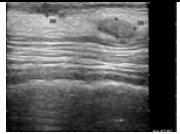
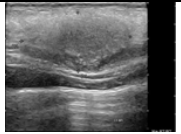
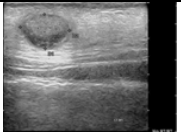
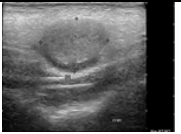
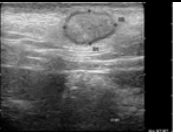
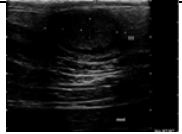
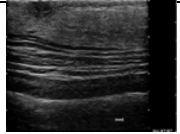
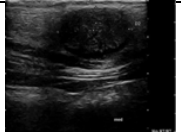
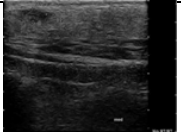
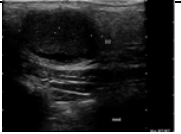

Zeitpunkt Schallrichtung	Injektion 1	Injektion 2	Injektion 3	Injektion 4	Injektion 5	Injektion 6
0 Monate kraniokaudal			*			
0 Monate lateromedial						
1 Monat kraniokaudal						
1 Monat lateromedial						
2 Monate kraniokaudal						
2 Monate lateromedial						
3 Monate kraniokaudal						

Abb. 17a: Bilder der Ultraschall-Untersuchung und Messungen, 99.03, Test-Item, Monat 0-3; *: kein Bild vorhanden

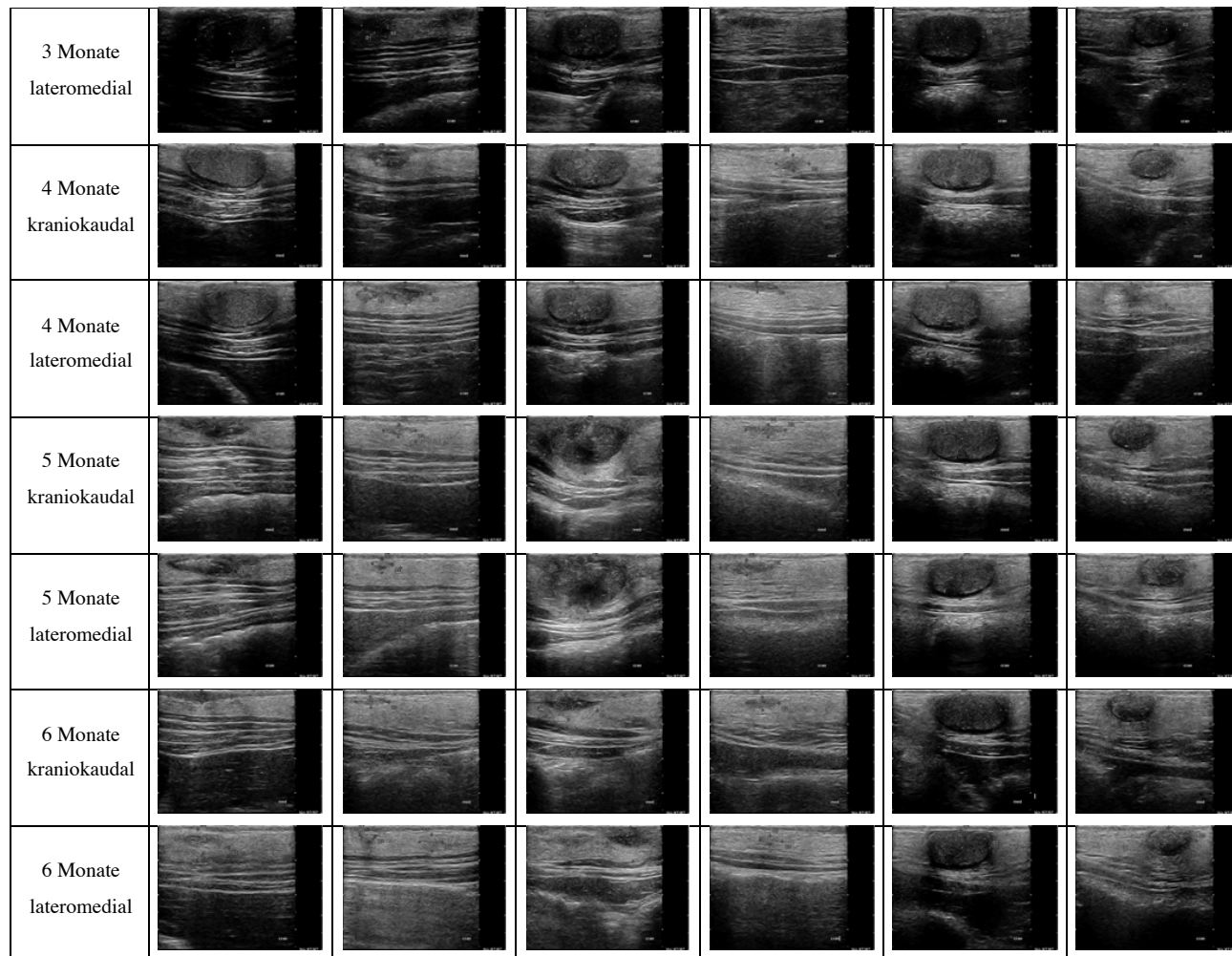


Abb. 17b: Bilder der Ultraschall-Untersuchung und Messungen, 99.03, Test-Item, Monat 3-6

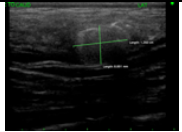
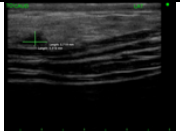
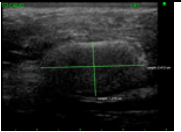
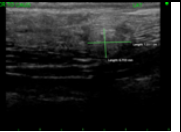
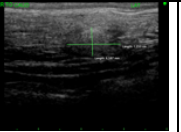
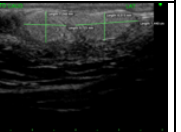
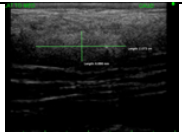
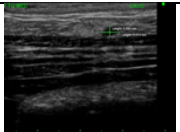
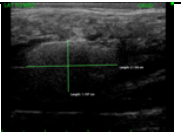
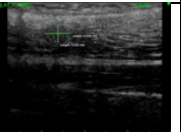
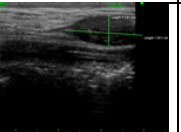
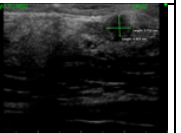
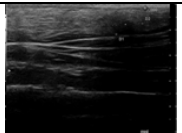
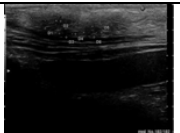
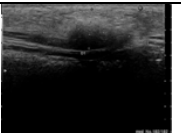
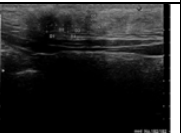
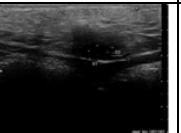
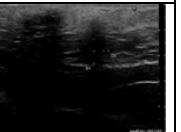
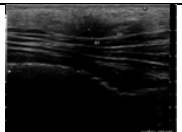
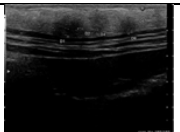
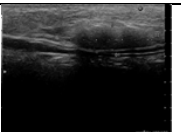
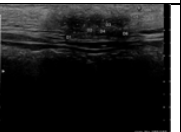
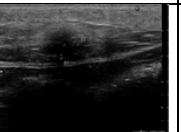
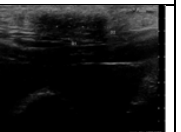
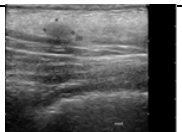
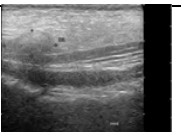
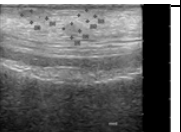
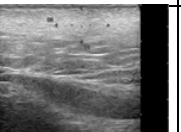
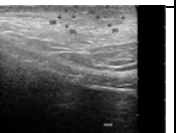
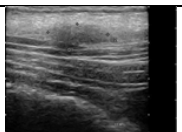
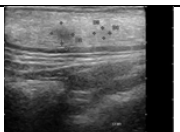

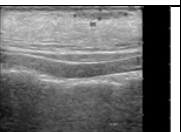
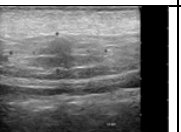
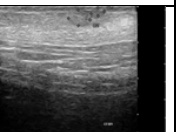
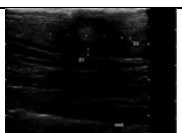
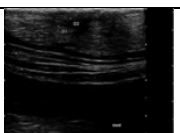
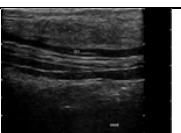
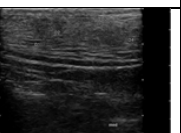
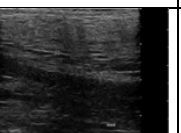
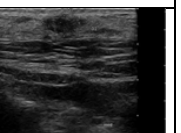
Zeitpunkt Schallrichtung	Injektion 7	Injektion 8	Injektion 9	Injektion 10	Injektion 11	Injektion 12
0 Monate kraniokaudal						
0 Monate lateromedial						
1 Monat kraniokaudal						
1 Monat lateromedial						
2 Monate kraniokaudal		*				
2 Monate lateromedial						
3 Monate kraniokaudal						

Abb. 18a: Bilder der Ultraschall-Untersuchung und Messungen, 99.03, Referenz-Item, Monat 0-3; *: kein Bild vorhanden

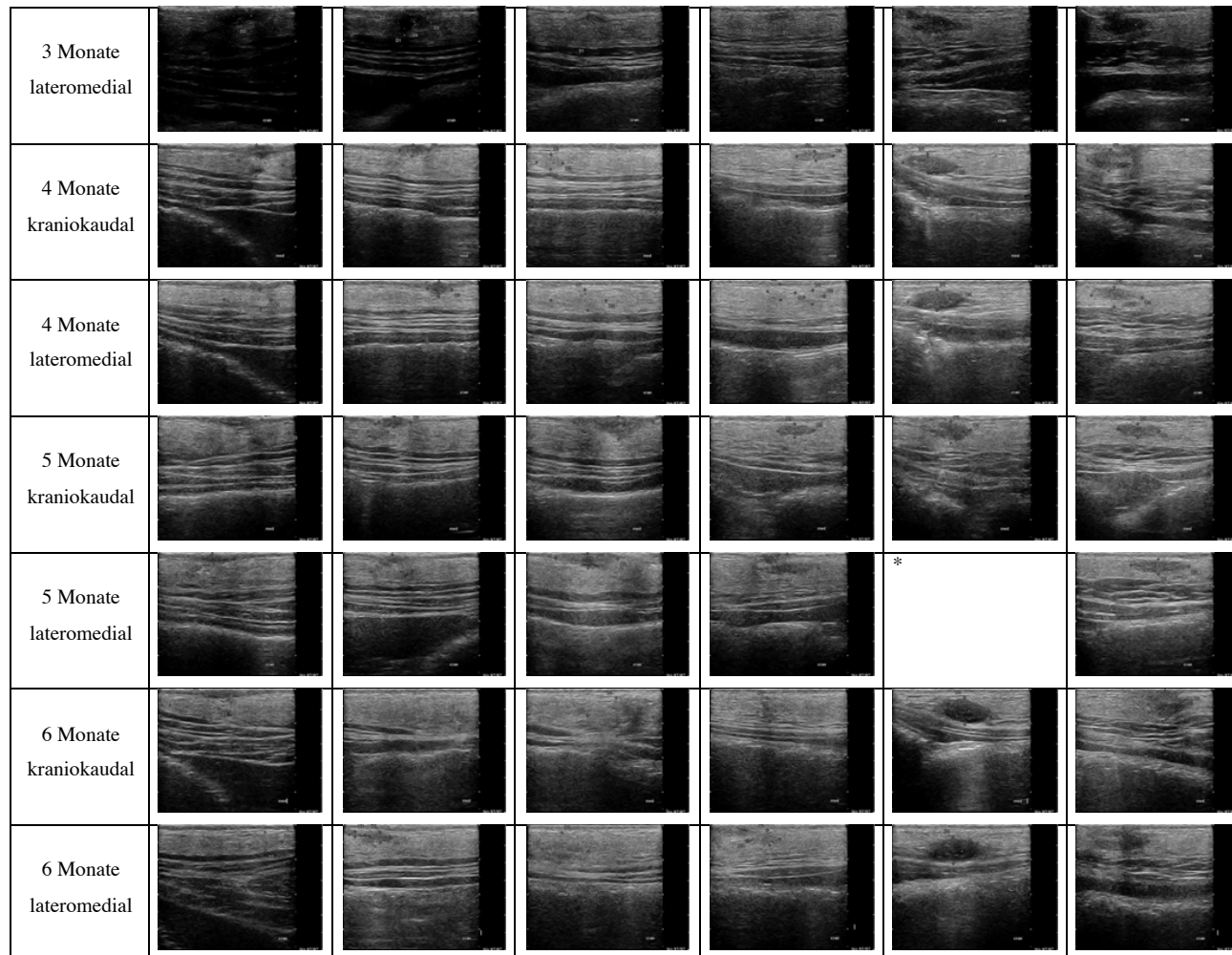


Abb. 18b: Bilder der Ultraschall-Untersuchung und Messungen, 99.03, Referenz-Item, Monat 3-6; *: kein Bild vorhanden

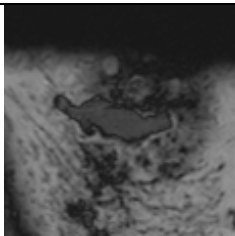
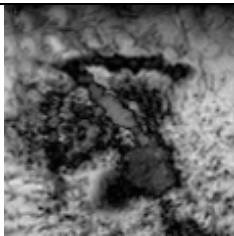
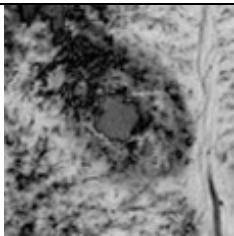
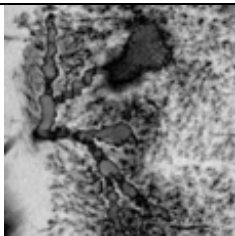
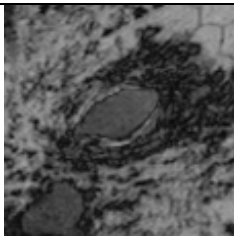
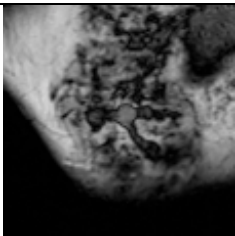
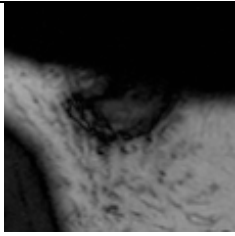
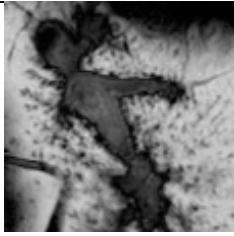
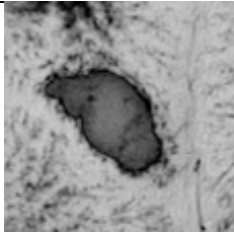
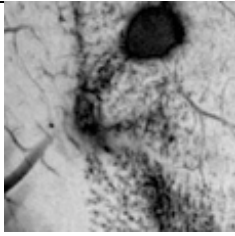
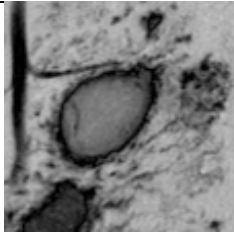
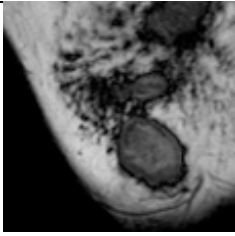
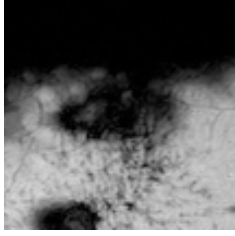
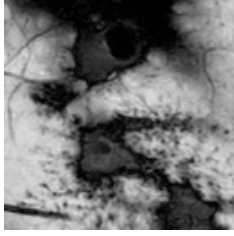
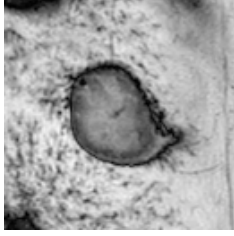
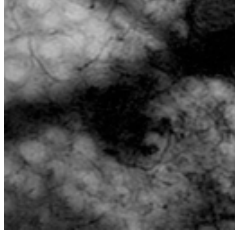
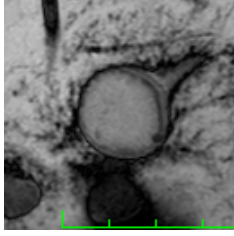
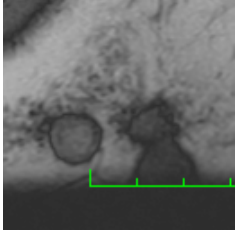
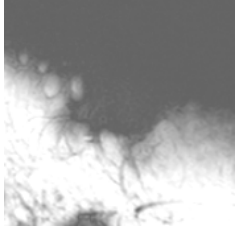
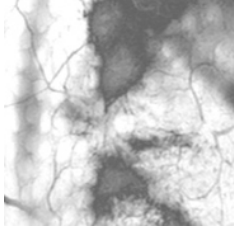
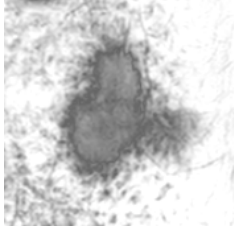
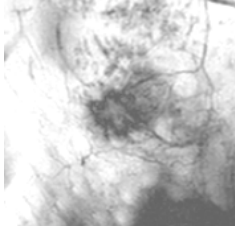
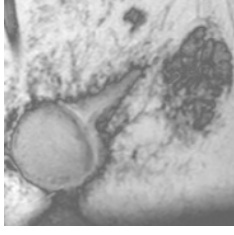
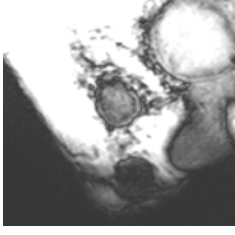
Zeitpunkt	Injektion 1	Injektion 2	Injektion 3	Injektion 4	Injektion 5	Injektion 6
0 Monate						
2 Monate						
4 Monate						
6 Monate						

Abb. 19: Bilder der MRI-Untersuchung und Messungen, 99.01, Test-Item, Sequenz: sT2WmDixon OP

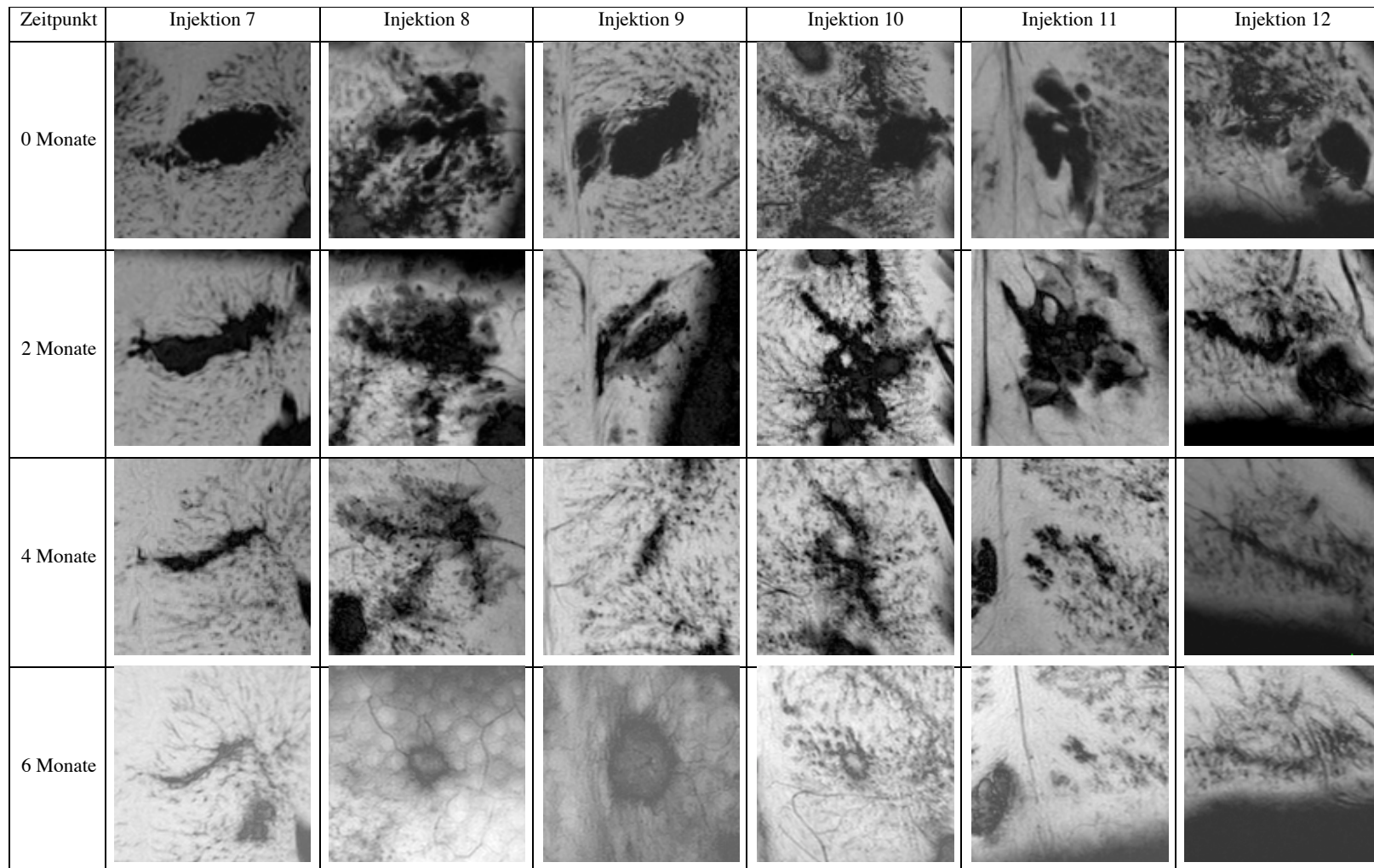


Abb. 20: Bilder der MRI-Untersuchung und Messungen, 99.01, Referenz-Item, Sequenz: sT2WmDixon OP

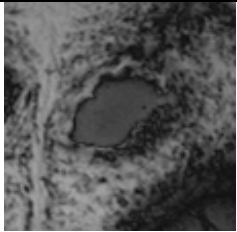
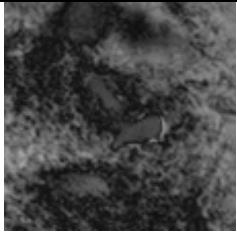
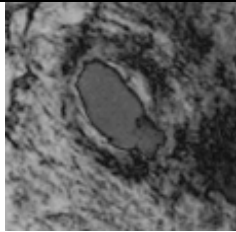
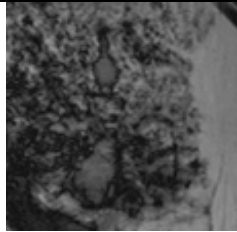
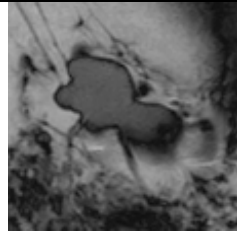
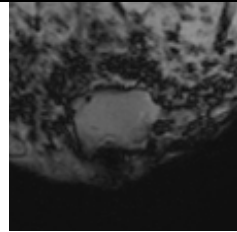
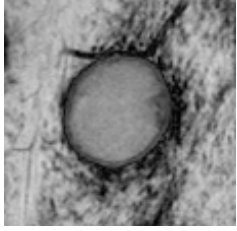
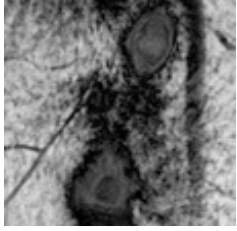
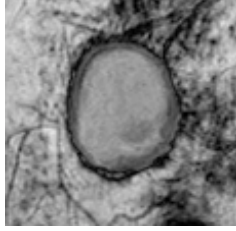
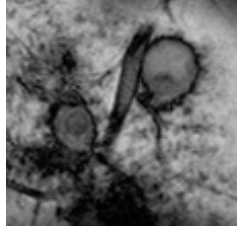
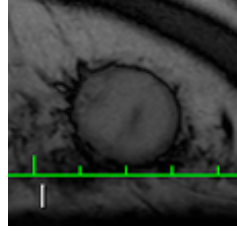
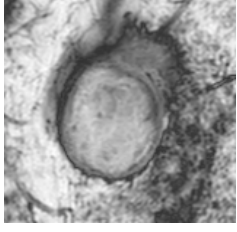
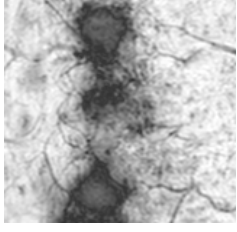
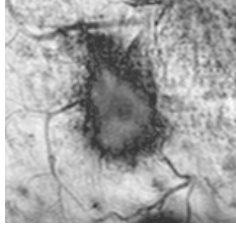
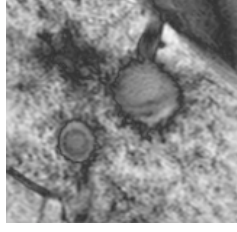
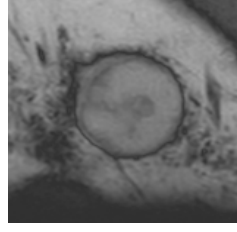
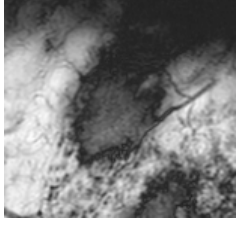
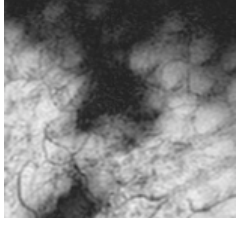
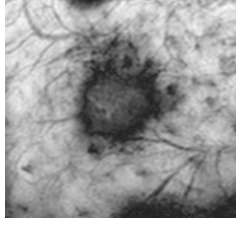
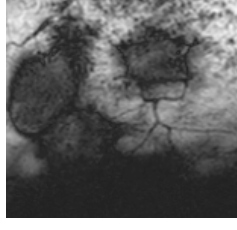
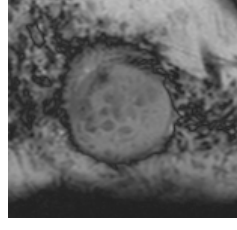
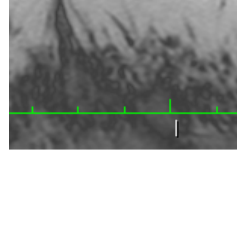
Zeitpunkt	Injektion 7	Injektion 8	Injektion 9	Injektion 10	Injektion 11	Injektion 12
0 Monate						
2 Monate						*
4 Monate						*
6 Monate						

Abb. 21: Bilder der MRI-Untersuchung und Messungen, 99.02, Test-Item, Sequenz: sT2WmDixon OP; *: kein Bild vorhanden

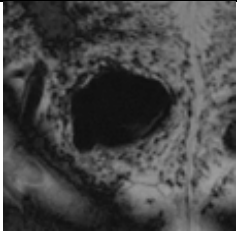
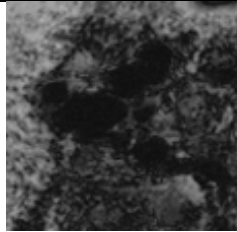
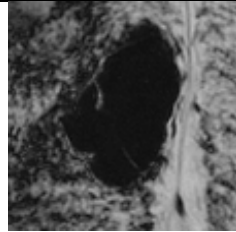
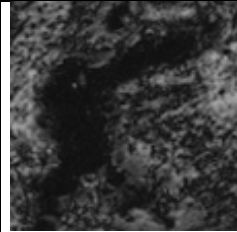
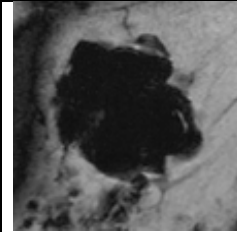
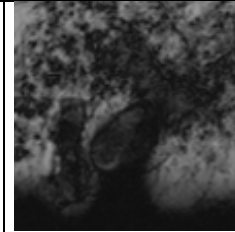
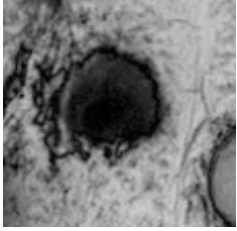

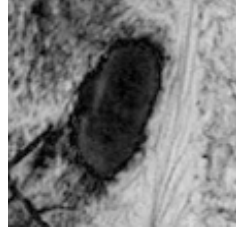
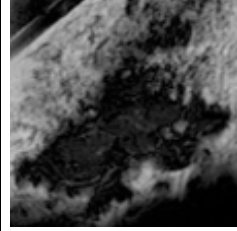
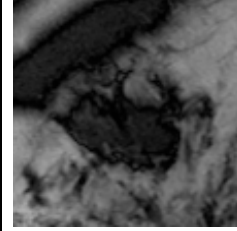
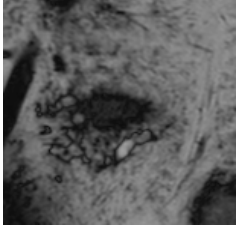
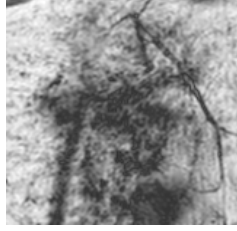
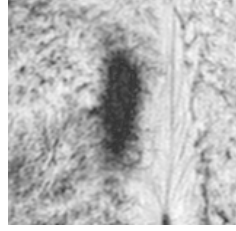
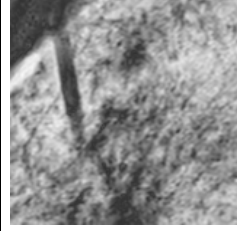
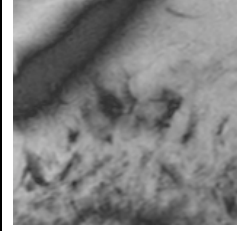
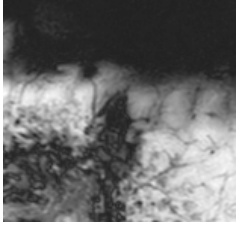
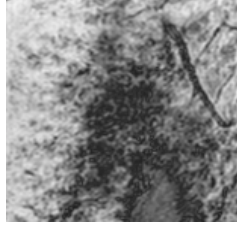
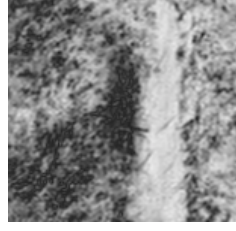
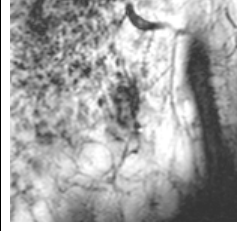
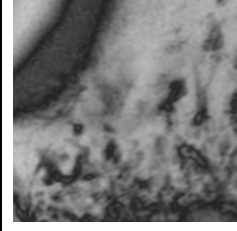
Zeitpunkt	Injektion 1	Injektion 2	Injektion 3	Injektion 4	Injektion 5	Injektion 6
0 Monate						
2 Monate						*
4 Monate						*
6 Monate						*

Abb. 22: Bilder der MRI-Untersuchung und Messungen, 99.02, Referenz-Item, Sequenz: sT2WmDixon OP; *: kein Bild vorhanden

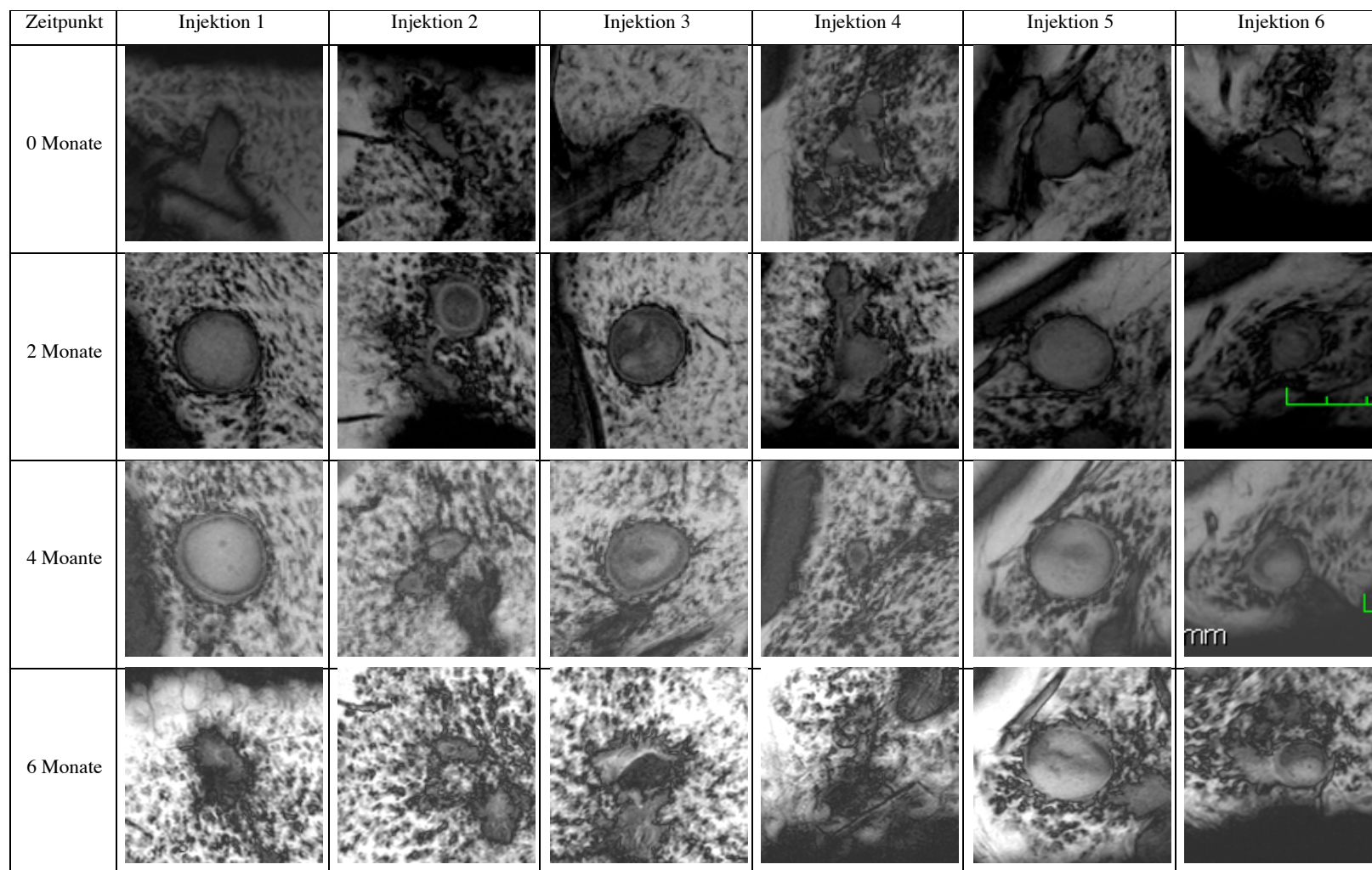


Abb. 23: Bilder der MRI-Untersuchung und Messungen, 99.03, Test-Item, Sequenz: sT2WmDixon OP

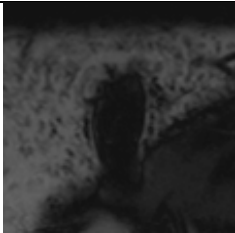
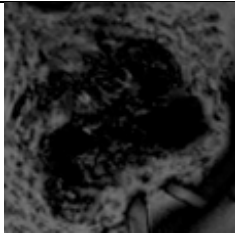
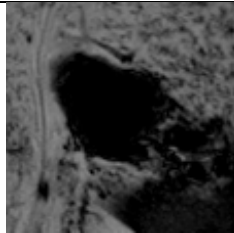
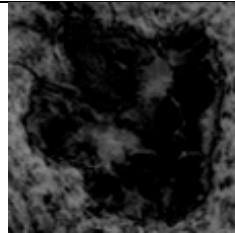
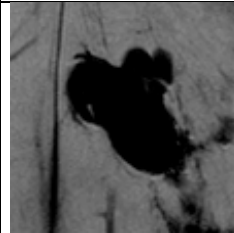
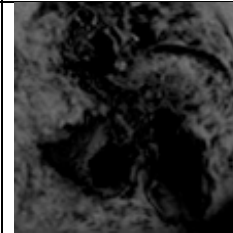
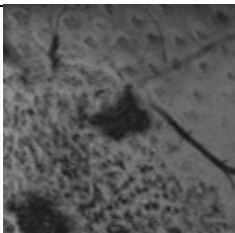
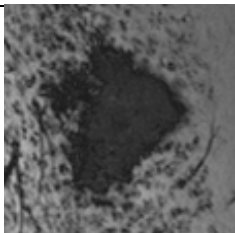
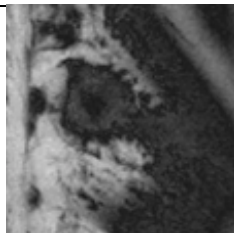
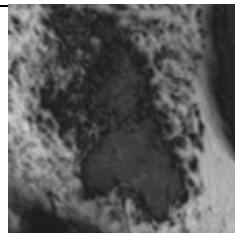
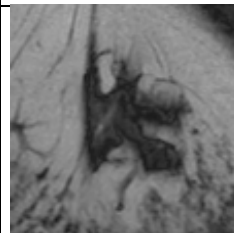
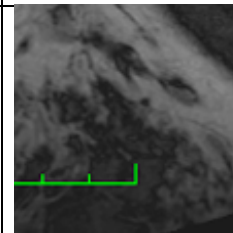
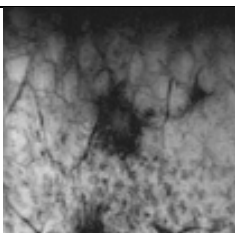
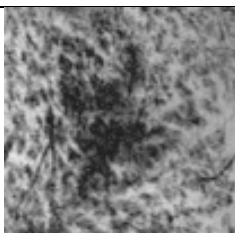
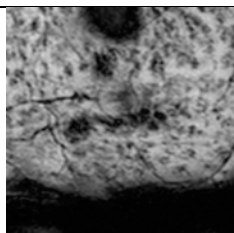
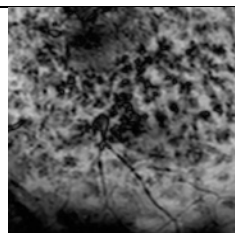
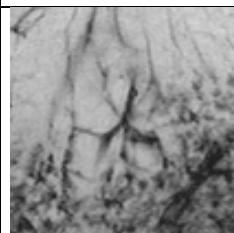
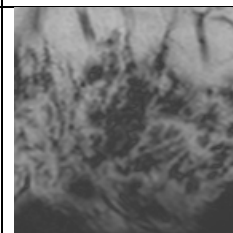
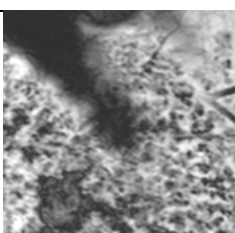
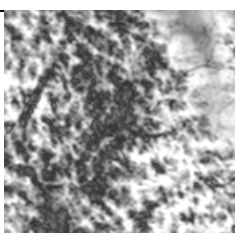
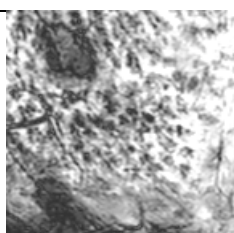
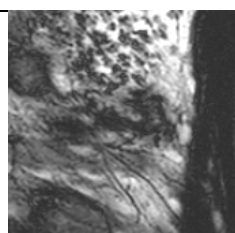
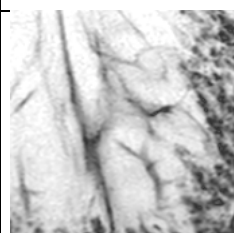
Zeitpunkt	Injektion 7	Injektion 8	Injektion 9	Injektion 10	Injektion 11	Injektion 12
0 Monate						
2 Monate						
4 Monate						
6 Monate						*

Abb. 24: Bilder der MRI-Untersuchung und Messungen, 99.03, Referenz-Item, Sequenz: sT2WmDixon OP; *: kein Bild vorhanden

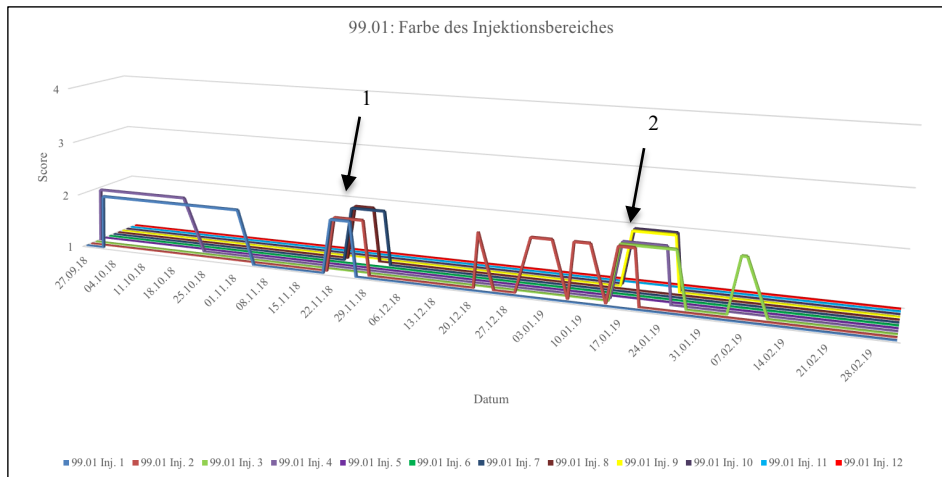


Abb. 25: Zeitlicher Verlauf des Kriteriums «Farbe des Injektionsbereiches», 99.01; 1: 1. Biopsie an Inj. 1, 2, 7 und 8; 2: 2. Biopsie an Inj. 3, 4, 9 und 10; Inj. 1-6: TI, Inj. 7-12 RI

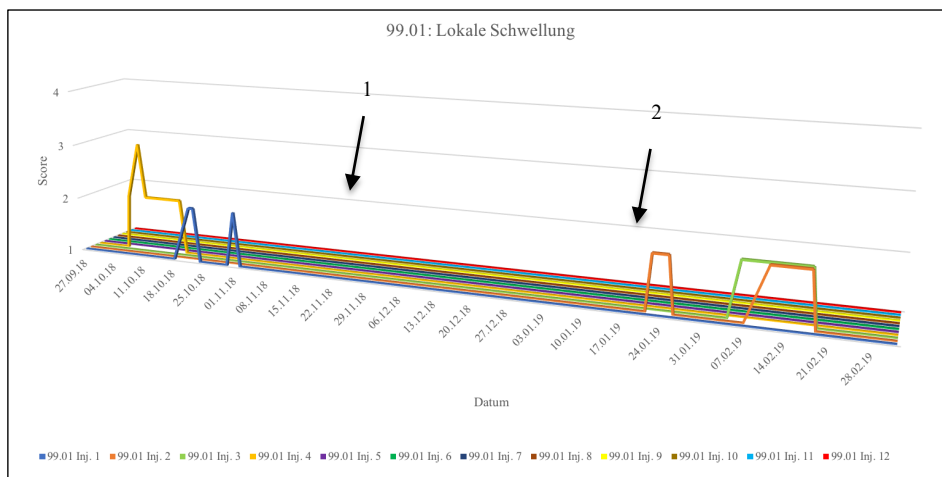


Abb. 26: Zeitlicher Verlauf des Kriteriums «Lokale Schwellung», 99.01; 1: 1. Biopsie an Inj. 1, 2, 7 und 8; 2: 2. Biopsie an Inj. 3, 4, 9 und 10; Inj. 1-6: TI, Inj. 7-12 RI

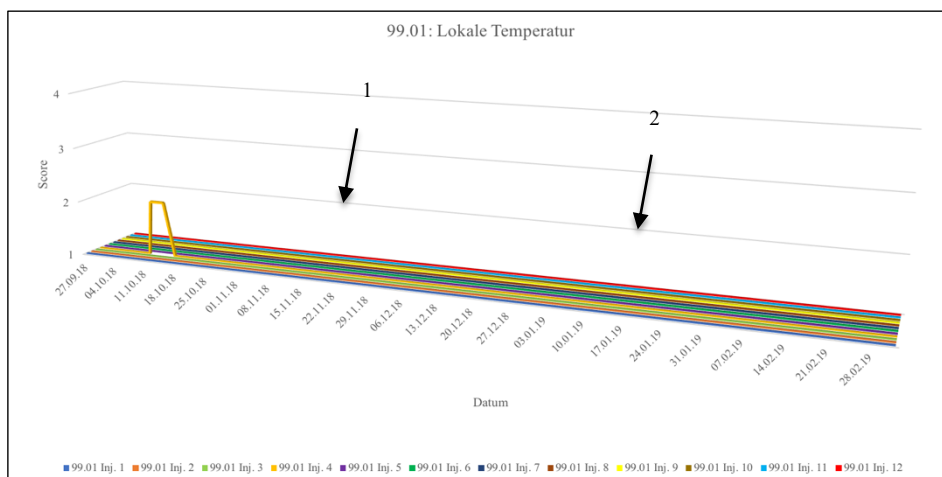


Abb. 27: Zeitlicher Verlauf des Kriteriums «Lokale Temperatur», 99.01; 1: 1. Biopsie an Inj. 1, 2, 7 und 8; 2: 2. Biopsie an Inj. 3, 4, 9 und 10; Inj. 1-6: TI, Inj. 7-12 RI

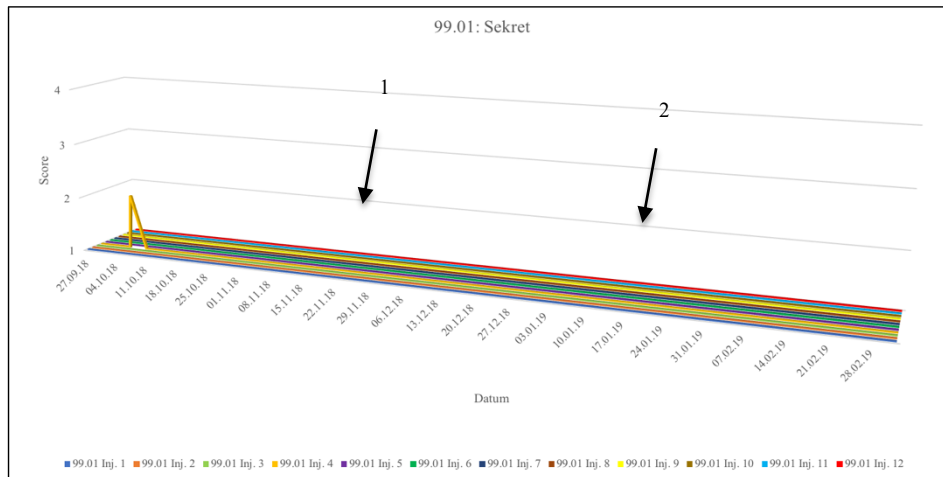


Abb. 28: Zeitlicher Verlauf des Kriteriums «Sekret», 99.01; 1: 1. Biopsie an Inj. 1, 2, 7 und 8; 2: 2. Biopsie an Inj. 3, 4, 9 und 10; Inj. 1-6: TI, Inj. 7-12 RI

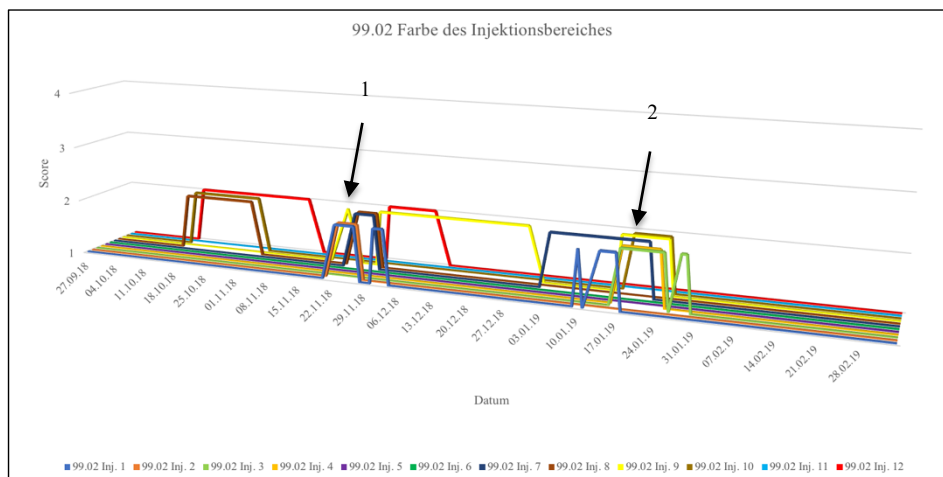


Abb. 29: Zeitlicher Verlauf des Kriteriums «Farbe des Injektionsbereiches», 99.02; 1: 1. Biopsie an Inj. 1, 2, 7 und 8; 2: 2. Biopsie an Inj. 3, 4, 9 und 10; Inj. 1-6: TI, Inj. 7-12 RI

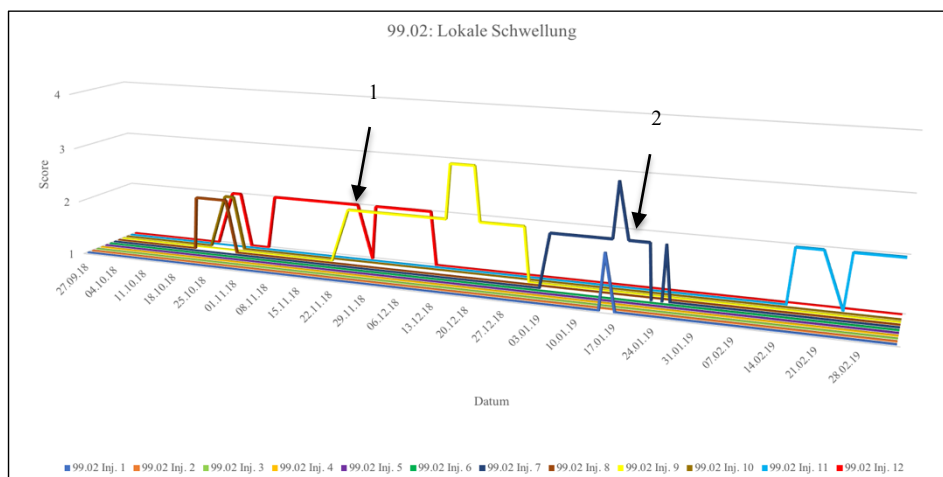


Abb. 30: Zeitlicher Verlauf des Kriteriums «Lokale Schwellung», 99.02; 1: 1. Biopsie an Inj. 1, 2, 7 und 8; 2: 2. Biopsie an Inj. 3, 4, 9 und 10; Inj. 1-6: TI, Inj. 7-12 RI

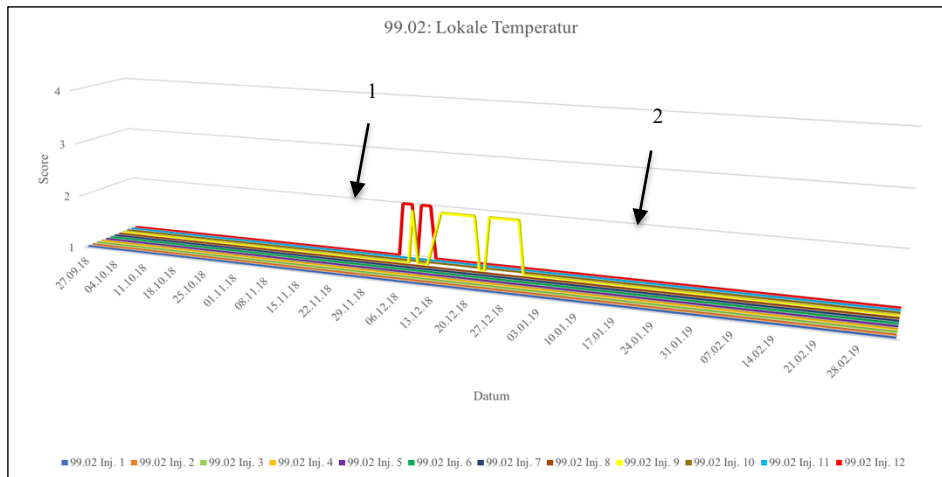


Abb. 31: Zeitlicher Verlauf des Kriteriums «Lokale Temperatur», 99.02; 1: 1. Biopsie an Inj. 1, 2, 7 und 8; 2: 2. Biopsie an Inj. 3, 4, 9 und 10; Inj. 1-6: TI, Inj. 7-12 RI

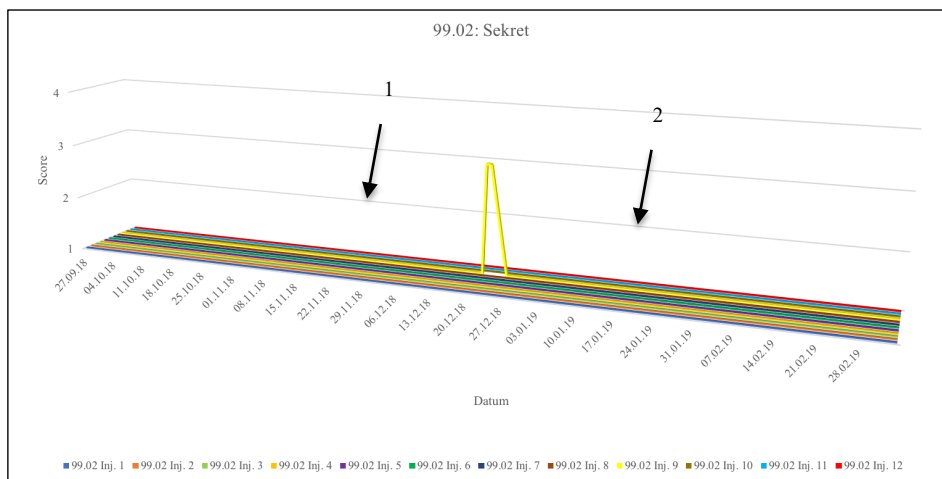


Abb. 32: Zeitlicher Verlauf des Kriteriums «Sekret», 99.02; 1: 1. Biopsie an Inj. 1, 2, 7 und 8; 2: 2. Biopsie an Inj. 3, 4, 9 und 10; Inj. 1-6: TI, Inj. 7-12 RI

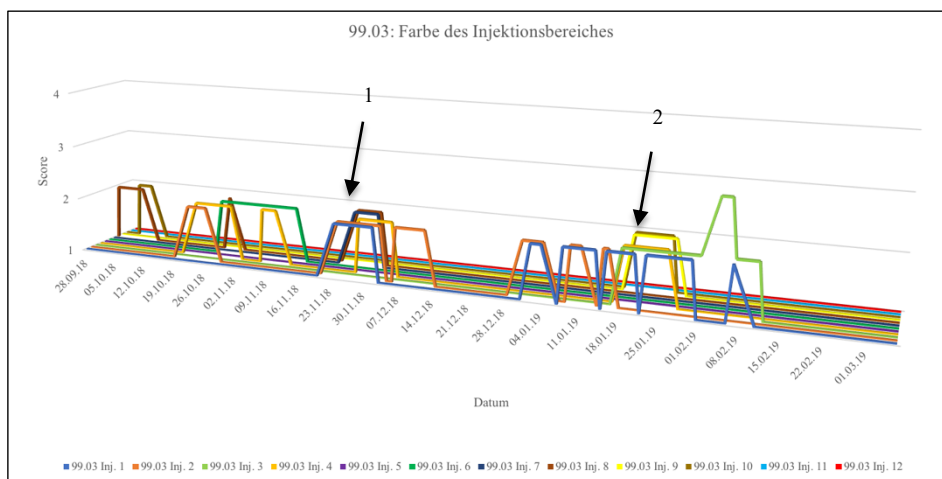


Abb. 33: Zeitlicher Verlauf des Kriteriums «Farbe des Injektionsbereiches», 99.03; 1: 1. Biopsie an Inj. 1, 2, 7 und 8; 2: 2. Biopsie an Inj. 3, 4, 9 und 10; Inj. 1-6: TI, Inj. 7-12 RI

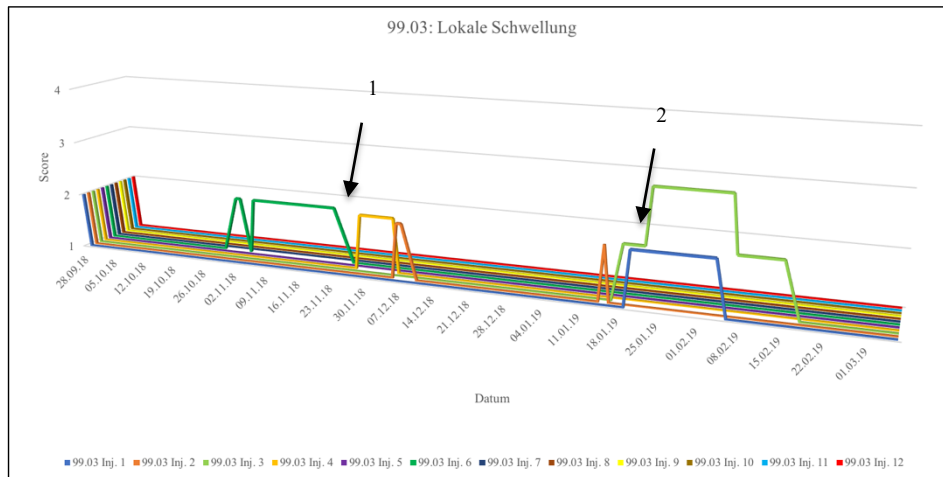


Abb. 34: Zeitlicher Verlauf des Kriteriums «Lokale Schwellung», 99.03; 1: 1. Biopsie an Inj. 1, 2, 7 und 8; 2: 2. Biopsie an Inj. 3, 4, 9 und 10; Inj. 1-6: TI, Inj. 7-12 RI

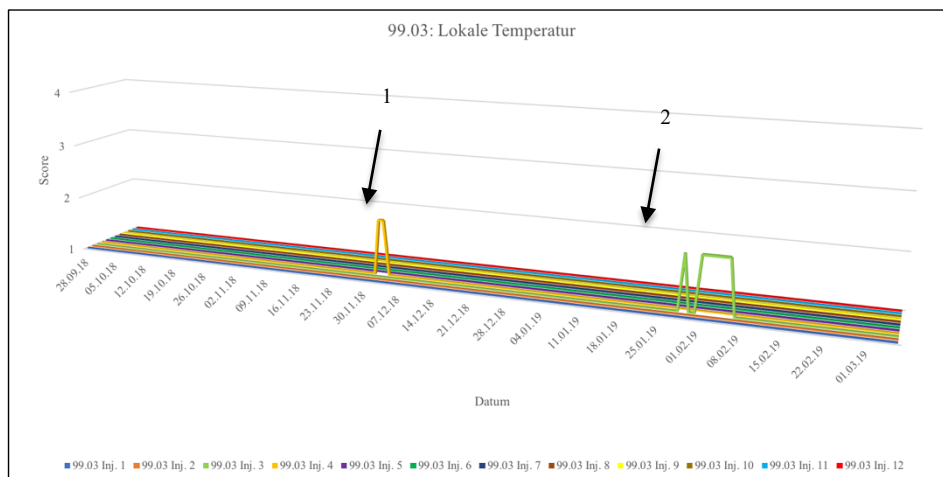


Abb. 35: Zeitlicher Verlauf des Kriteriums «Lokale Temperatur», 99.03; 1: 1. Biopsie an Inj. 1, 2, 7 und 8; 2: 2. Biopsie an Inj. 3, 4, 9 und 10; Inj. 1-6: TI, Inj. 7-12 RI

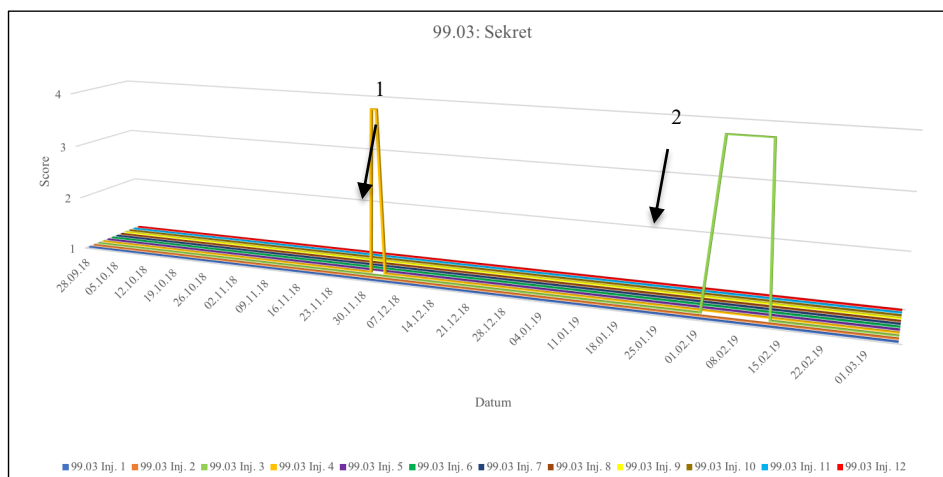


Abb. 36: Zeitlicher Verlauf des Kriteriums «Sekret», 99.03; 1: 1. Biopsie an Inj. 1, 2, 7 und 8; 2: 2. Biopsie an Inj. 3, 4, 9 und 10; Inj. 1-6: TI, Inj. 7-12 RI

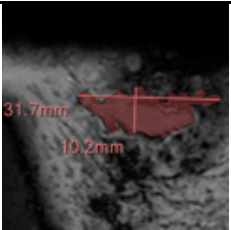
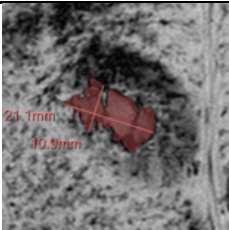
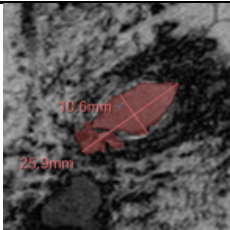
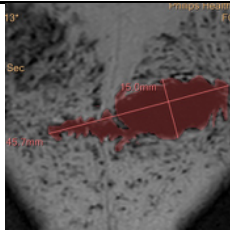
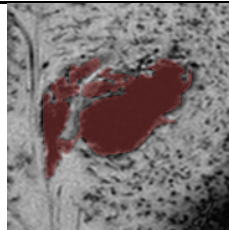
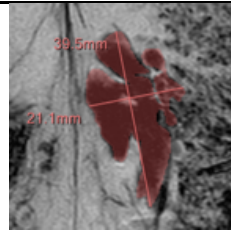
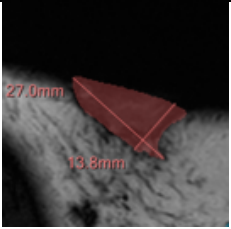
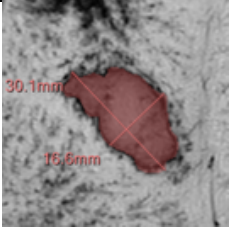
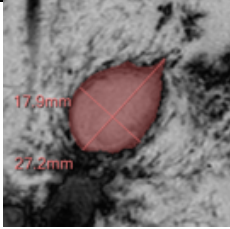
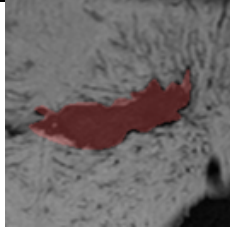
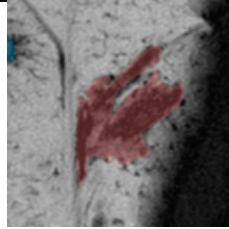
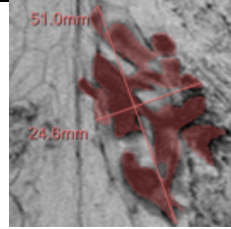
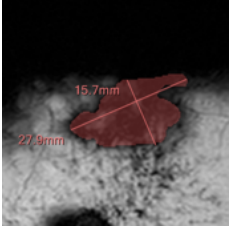
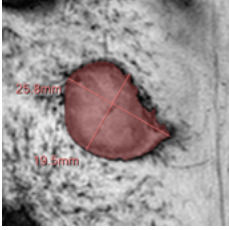
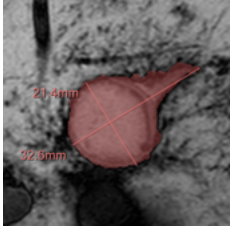
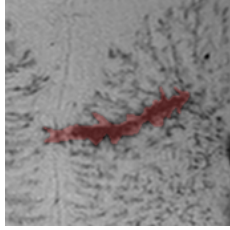
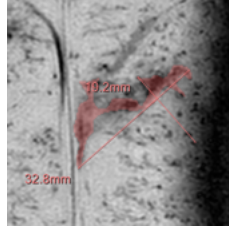
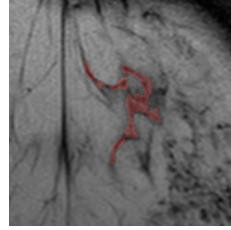
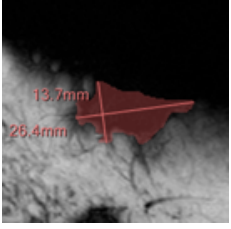
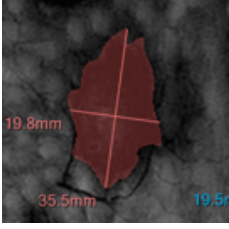
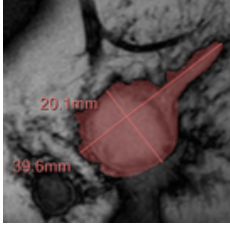
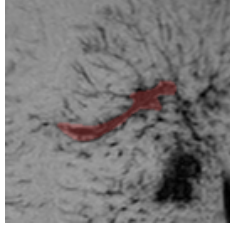
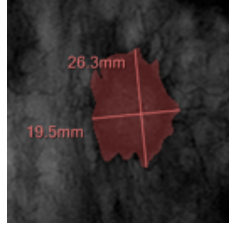
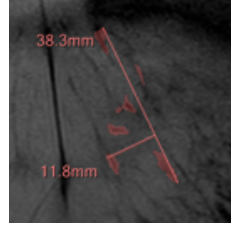
Zeitpunkt	Injektion 1	Injektion 3	Injektion 5	Injektion 7	Injektion 9	Injektion 11
0 Monate						
2 Monate						
4 Monate						
6 Monate						

Abb. 37: Bilder der MRI-Untersuchung und Messungen, 99.01, Messungen, Sequenz: sT2WmDixon OP

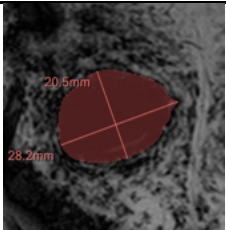
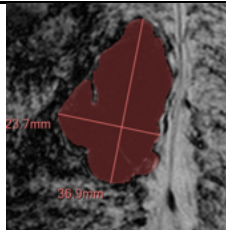
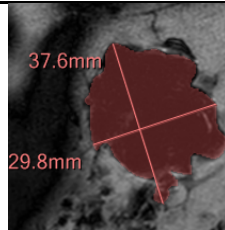
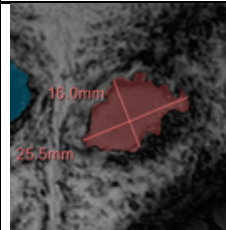
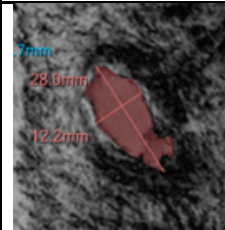
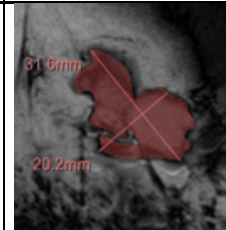
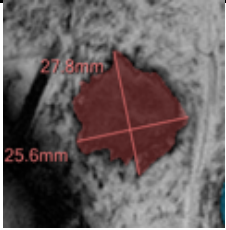
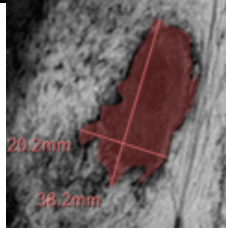
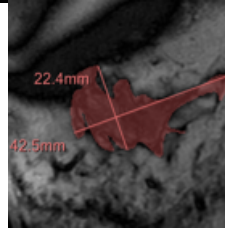
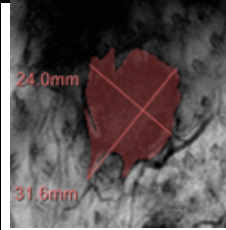
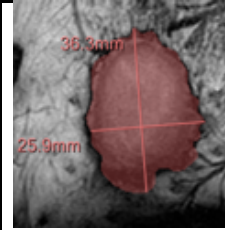
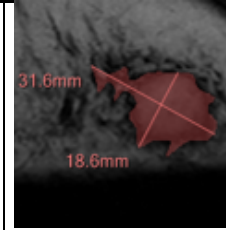
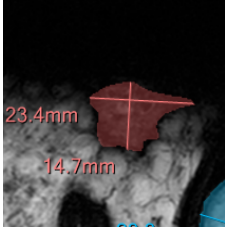
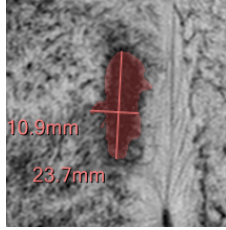
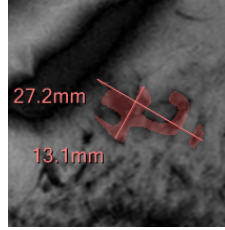
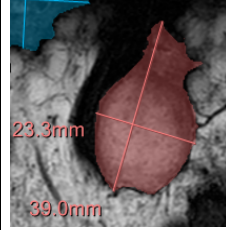
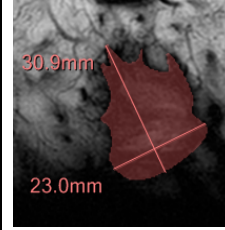
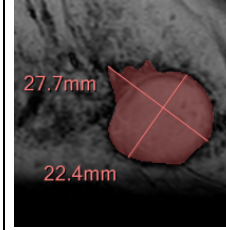
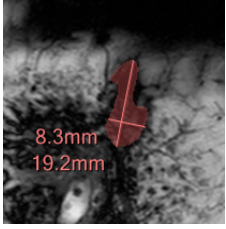
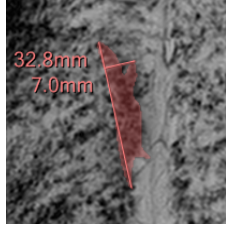
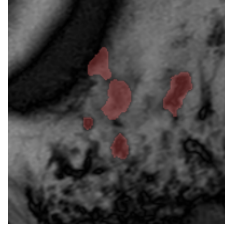
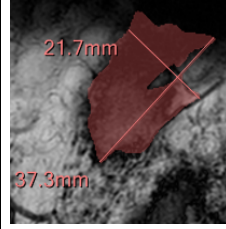
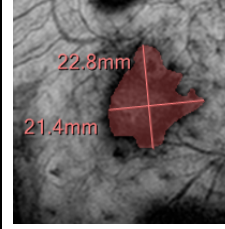
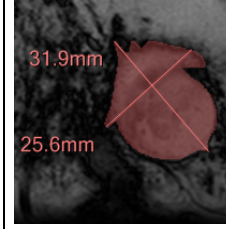
Zeitpunkt	Injektion 1	Injektion 3	Injektion 5	Injektion 7	Injektion 9	Injektion 11
0 Monate						
2 Monate						
4 Monate						
6 Monate						

Abb. 38: Bilder der MRI-Untersuchung und Messungen, 99.02, Messungen, Sequenz: sT2WmDixon OP

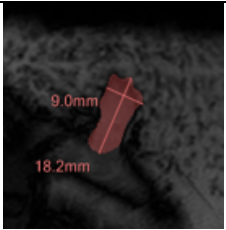
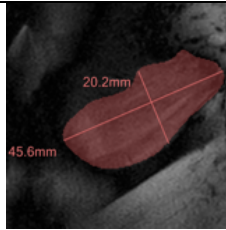
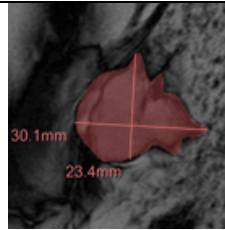
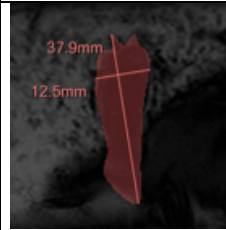
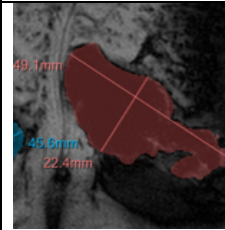
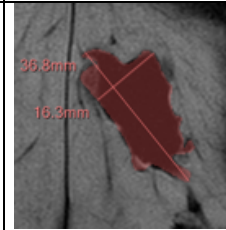
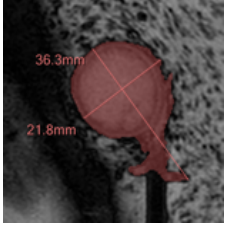
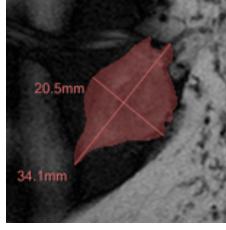
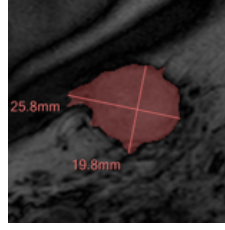
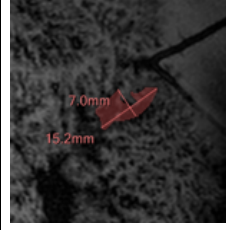
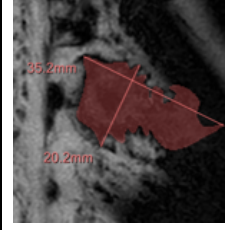
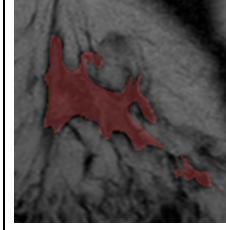
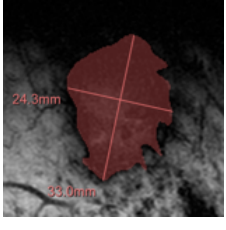
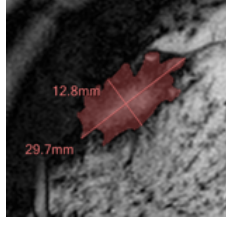
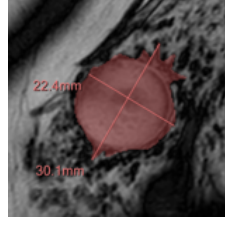
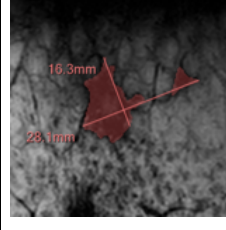
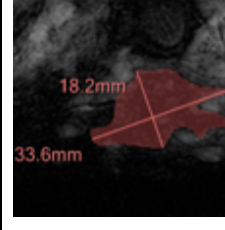
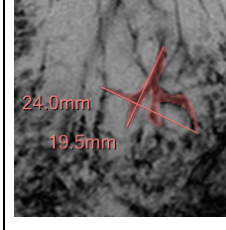
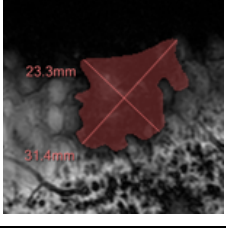
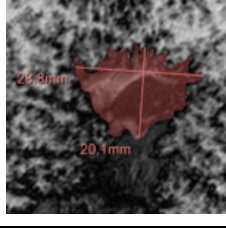
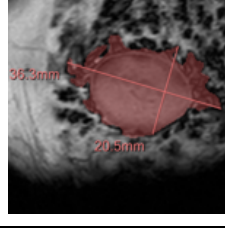
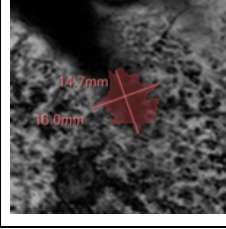
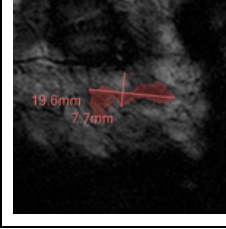
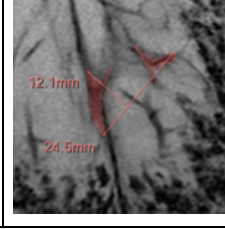
Zeitpunkt	Injektion 1	Injektion 3	Injektion 5	Injektion 7	Injektion 9	Injektion 11
0 Monate						
2 Monate						
4 Monate						
6 Monate						

Abb. 39: Bilder der MRI-Untersuchung und Messungen, 99.03, Messungen, Sequenz: sT2WmDixon OP

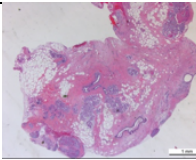
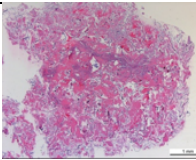
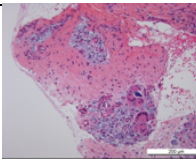
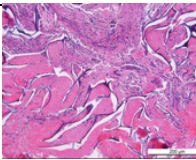
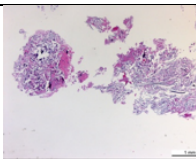
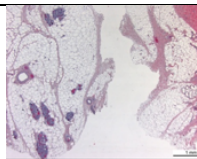
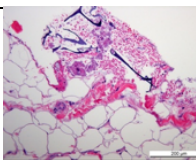
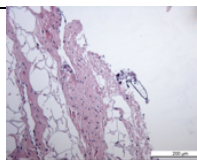
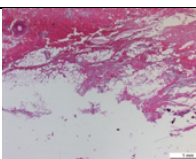
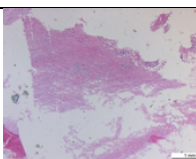
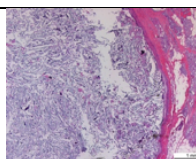
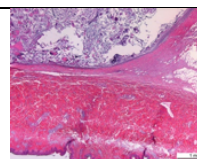
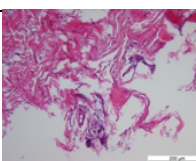
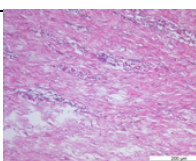
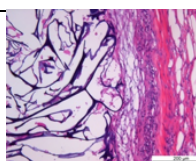
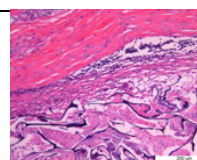
Zeitpunkt Vergrößerung	Injektion 1	Injektion 2	Injektion 3	Injektion 4	Injektion 5	Injektion 6
2 Monate 4fach			*	*	*	*
2 Monate 35fach			/	/	/	/
4 Monate 4fach	/	/			/	/
4 Monate 35fach	/	/			/	/
6 Monate 4fach	*			*		
6 Monate 35fach	*			*		

Abb. 40: Bilder der histologischen Schnitte, 99.01, Test-Item; /: keine Biopsie entnommen, *: kein Bild vorhanden

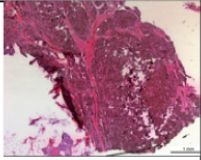
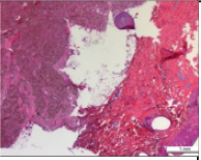
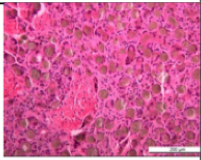
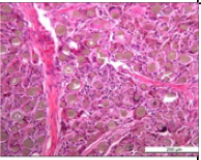
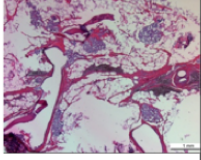
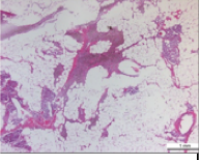
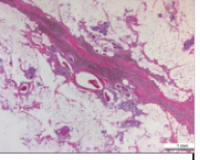
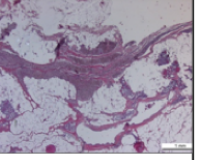
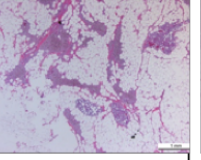
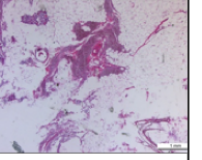
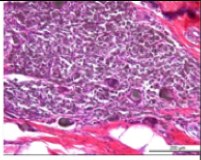
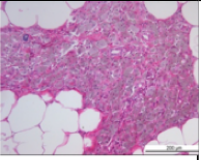
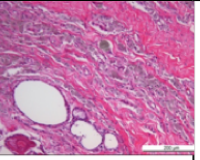
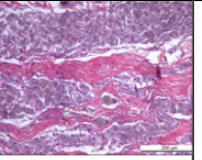
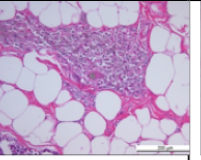
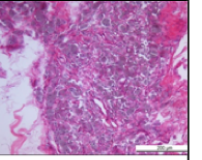
Zeitpunkt Vergrößerung	Injektion 7	Injektion 8	Injektion 9	Injektion 10	Injektion 11	Injektion 12
2 Monate 4fach			/	/	/	/
2 Monate 35fach			/	/	/	/
4 Monate	/	/	*	*	/	/
6 Monate 4fach						
6 Monate 35fach						

Abb. 41: Bilder der histologischen Schnitte, 99.01, Referenz-Item; /: keine Biopsie entnommen, *: kein Bild vorhanden

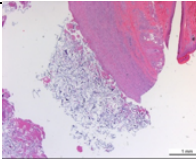
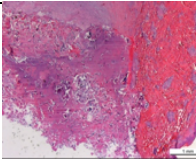
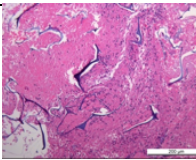
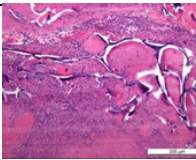
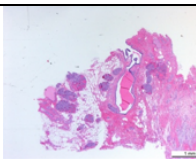
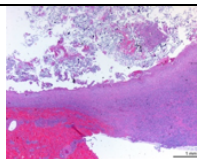
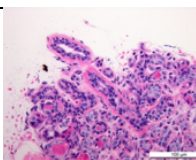
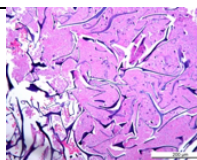
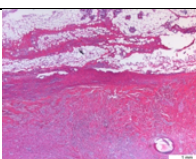
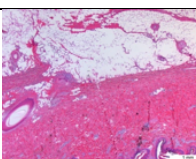
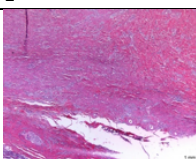
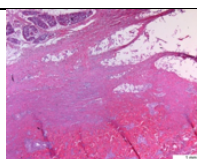
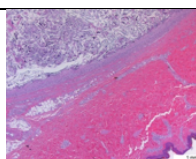
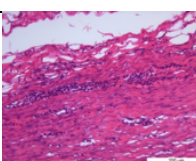
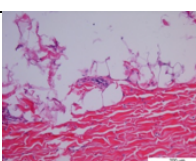
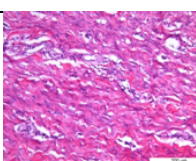
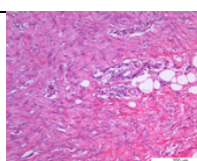
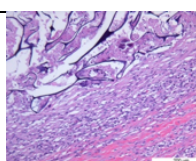
Zeitpunkt Vergrößerung	Injektion 7	Injektion 8	Injektion 9	Injektion 10	Injektion 11	Injektion 12
2 Monate 4fach			/	/	/	/
2 Monate 35fach			/	/	/	/
4 Monate 4fach	/	/			/	/
4 Monate 35fach	/	/			/	/
6 Monate 4fach						*
6 Monate 35fach						*

Abb. 42: Bilder der histologischen Schnitte, 99.02, Test-Item; /: keine Biopsie entnommen, *: kein Bild vorhanden; -: 70fache Vergrößerung

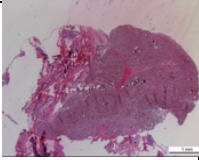
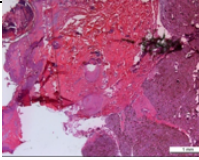
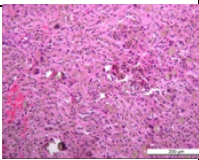
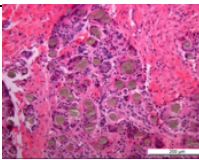
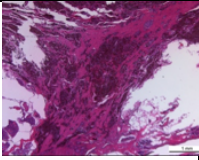
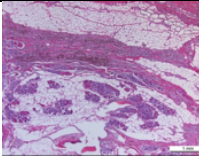
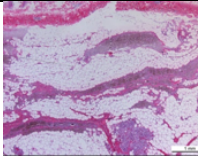
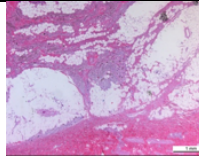
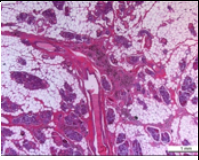
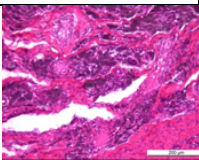
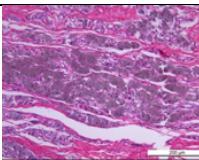
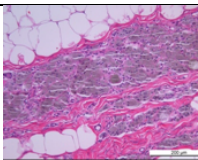
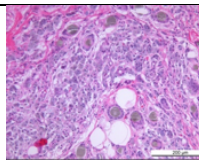
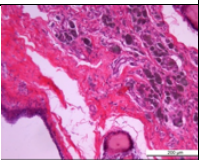
Zeitpunkt Vergrößerung	Injektion 1	Injektion 2	Injektion 3	Injektion 4	Injektion 5	Injektion 6
2 Monate 4fach			/	/	/	/
2 Monate 35fach			/	/	/	/
4 Monate	/	/	*	*	/	/
6 Monate 4fach					*	
6 Monate 35fach					*	

Abb. 43: Bilder der histologischen Schnitte, 99.02, Referenz-Item; /: keine Biopsie entnommen, *: kein Bild vorhanden

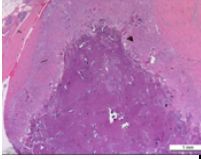
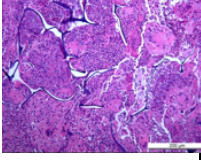
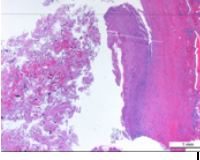
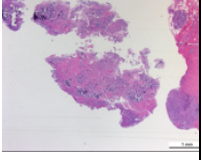
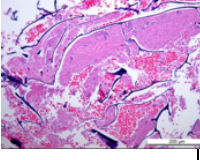
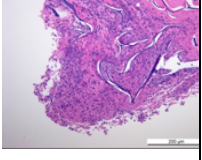
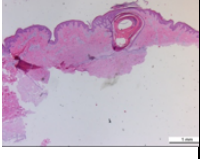
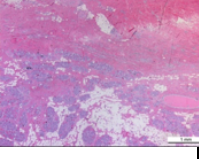
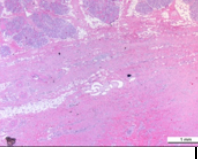
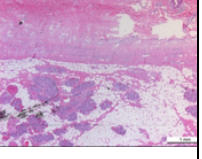
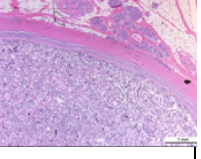
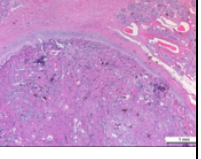
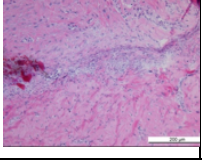
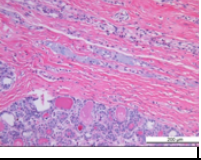
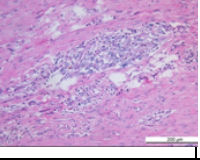
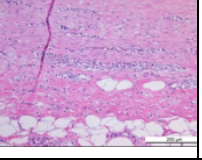
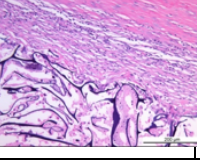
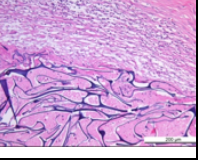
Zeitpunkt Vergrößerung	Injektion 1	Injektion 2	Injektion 3	Injektion 4	Injektion 5	Injektion 6
2 Monate 4fach	*		/	/	/	/
2 Monate 35fach	*		/	/	/	/
4 Monate 4fach	/	/			/	/
4 Monate 35fach	/	/			/	/
6 Monate 4fach						
6 Monate 35fach						

Abb. 44: Bilder der histologischen Schnitte, 99.03, Test-Item; /: keine Biopsie entnommen, *: kein Bild vorhanden

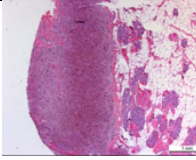
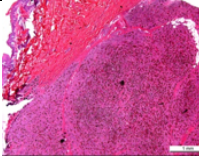
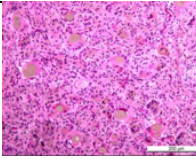
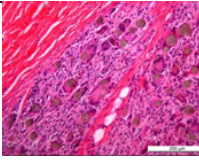
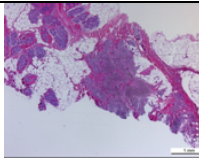
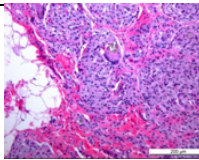
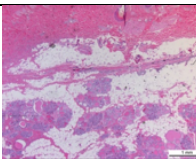
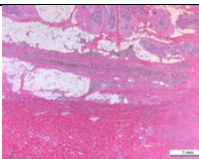
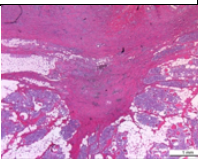
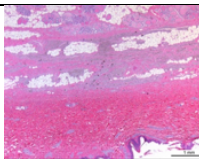
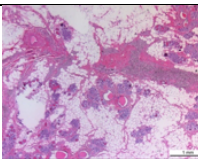
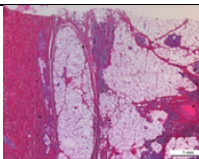
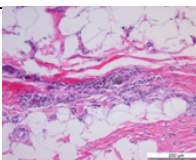
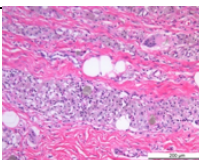
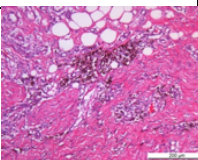
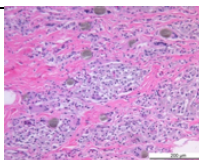
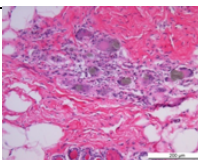
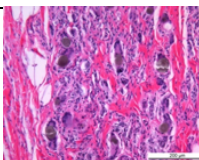
Zeitpunkt Vergrößerung	Injektion 7	Injektion 8	Injektion 9	Injektion 10	Injektion 11	Injektion 12
2 Monate 4fach			/	/	/	/
2 Monate 35fach			/	/	/	/
4 Monate 4fach	/	/	*		/	/
4 Monate 35fach	/	/	*		/	/
6 Monate 4fach						
6 Monate 35fach						

Abb. 45: Bilder der histologischen Schnitte, 99.03, Referenz-Item; /: keine Biopsie entnommen, *: kein Bild vorhanden

Granulom (histologisch)	
Kapsel (sonografisch)	
Abszess (makroskopisch)	
Biopsie	
Keine Reaktion sichtbar (histologisch)	
Grösse in cm ³ (nur Boli)	

Abb. 46: Legende für die Zusammenfassung der Befunde über die Zeit

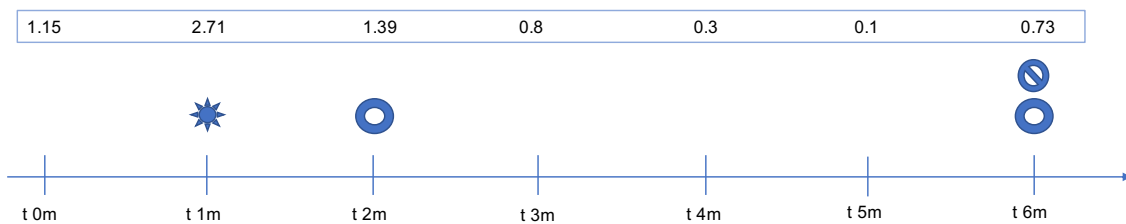


Abb. 47: Zusammenfassung der Befunde über die Zeit, 99.01, Injektion 1 (Bolus, TI)

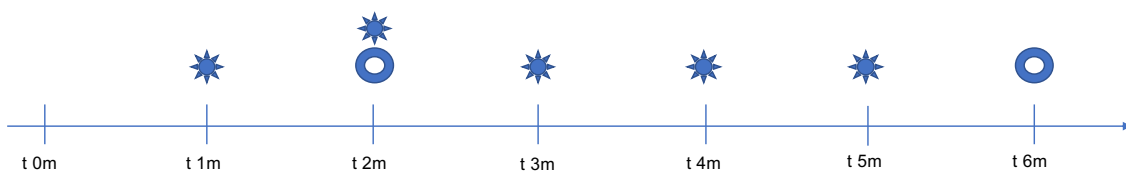


Abb. 48: Zusammenfassung der Befunde über die Zeit, 99.01, Injektion 2 (Stern, TI)

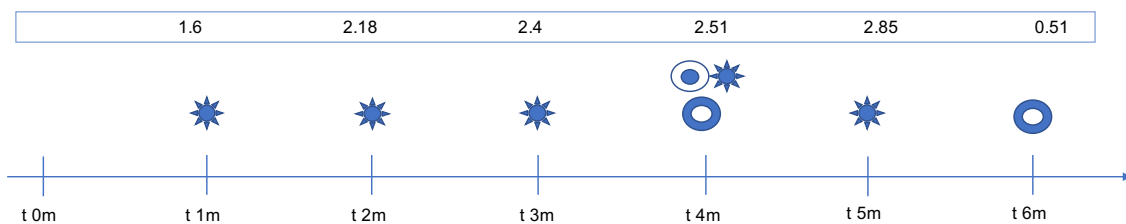


Abb. 49: Zusammenfassung der Befunde über die Zeit, 99.01, Injektion 3 (Bolus, TI)

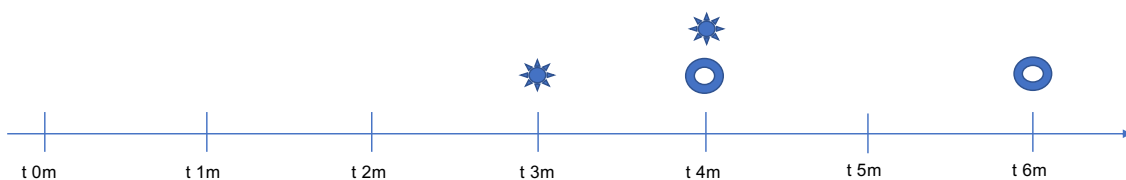


Abb. 50: Zusammenfassung der Befunde über die Zeit, 99.01, Injektion 4 (Stern, TI)

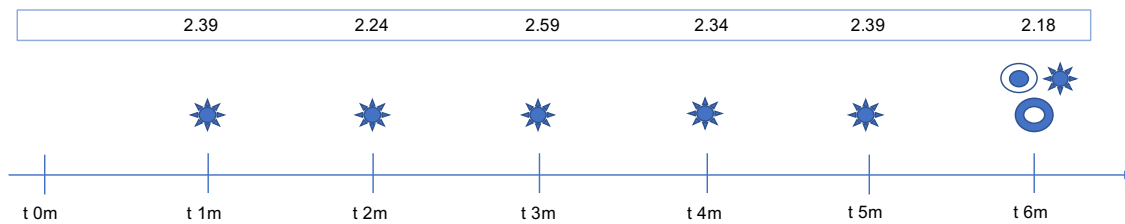


Abb. 51: Zusammenfassung der Befunde über die Zeit, 99.01, Injektion 5 (Bolus, TI)

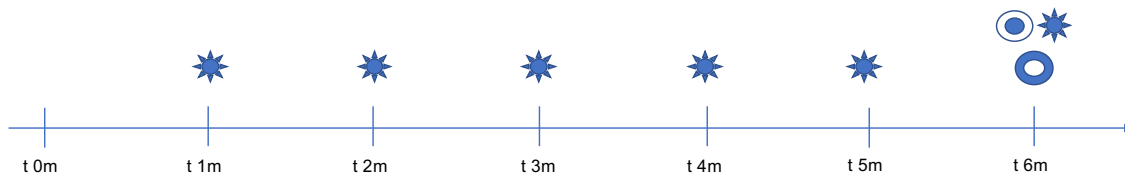


Abb. 52: Zusammenfassung der Befunde über die Zeit, 99.01, Injektion 6 (Stern, TI)

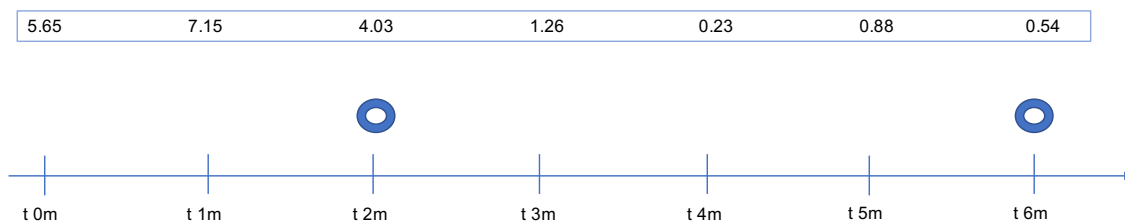


Abb. 53: Zusammenfassung der Befunde über die Zeit, 99.01, Injektion 7 (Bolus, RI)

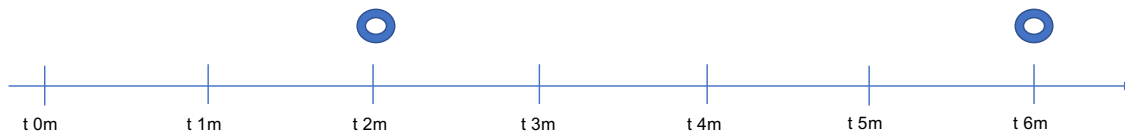


Abb. 54: Zusammenfassung der Befunde über die Zeit, 99.01, Injektion 8 (Stern, RI)

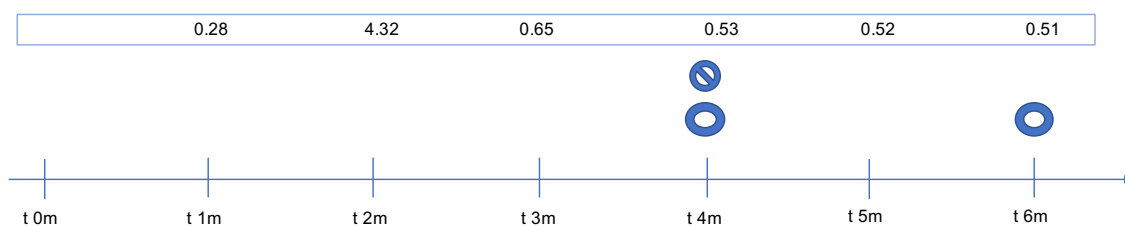


Abb. 55: Zusammenfassung der Befunde über die Zeit, 99.01, Injektion 9 (Bolus, RI)

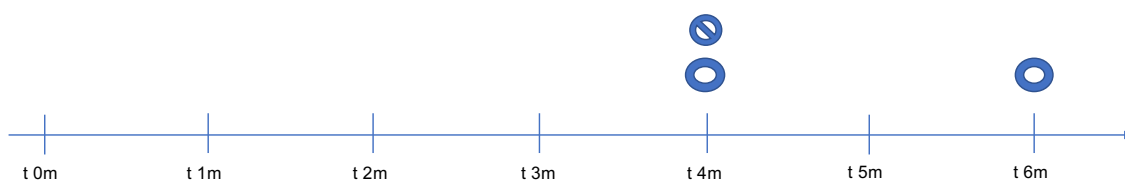


Abb. 56: Zusammenfassung der Befunde über die Zeit, 99.01, Injektion 10 (Stern, RI)

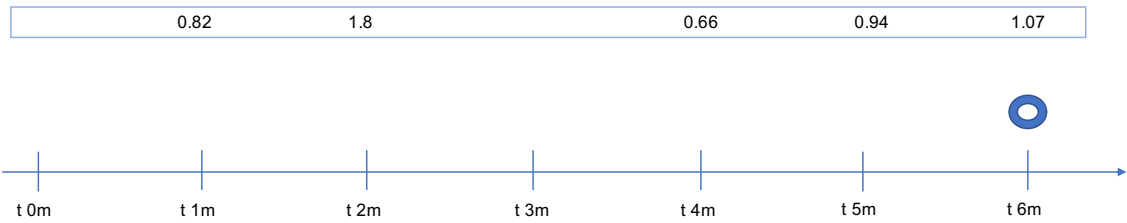


Abb. 57: Zusammenfassung der Befunde über die Zeit, 99.01, Injektion 11 (Bolus, RI)

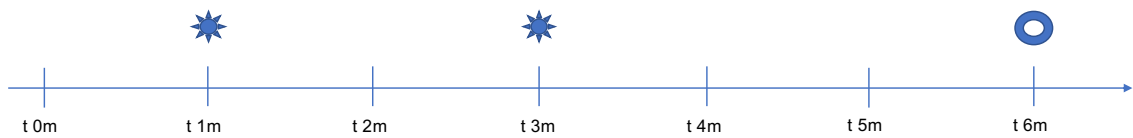


Abb. 58: Zusammenfassung der Befunde über die Zeit, 99.01, Injektion 12 (Stern, RI)

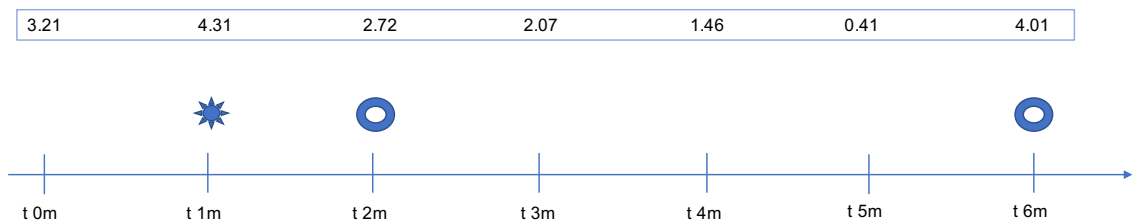


Abb. 59: Zusammenfassung der Befunde über die Zeit, 99.02, Injektion 1 (Bolus, RI)

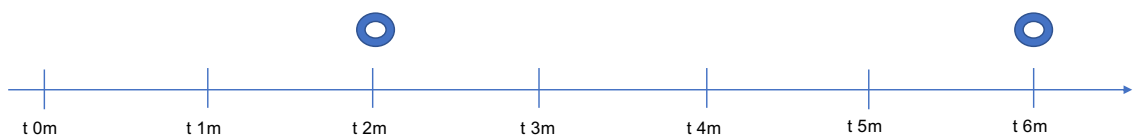


Abb. 60: Zusammenfassung der Befunde über die Zeit, 99.02, Injektion 2 (Stern, RI)

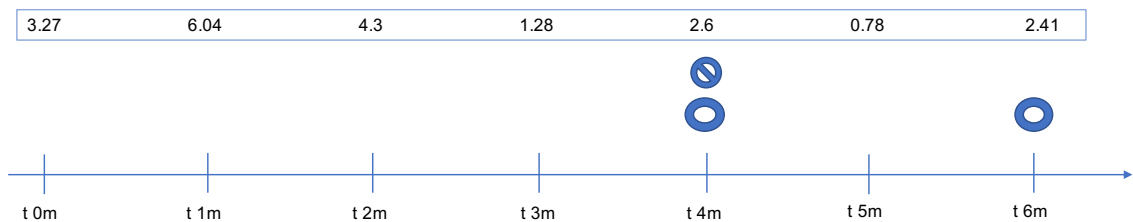


Abb. 61: Zusammenfassung der Befunde über die Zeit, 99.02, Injektion 3 (Bolus, RI)

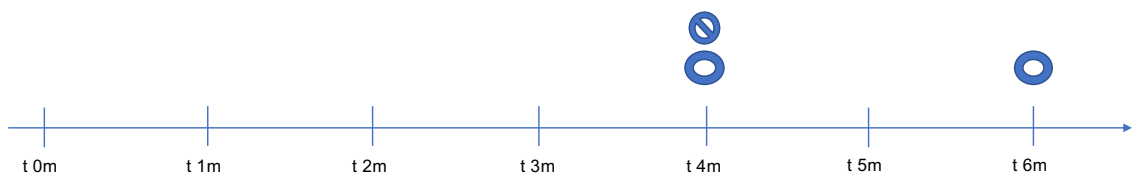


Abb. 62: Zusammenfassung der Befunde über die Zeit, 99.02, Injektion 4 (Stern, RI)

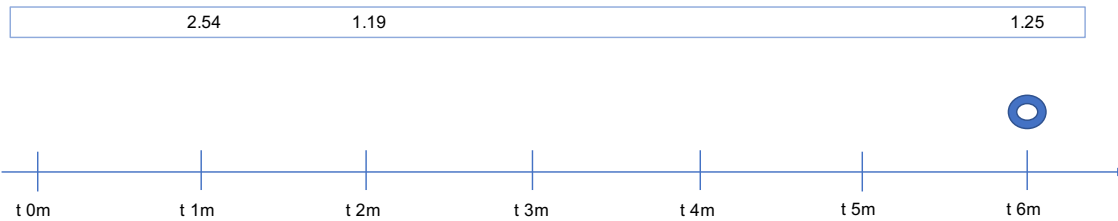


Abb. 63: Zusammenfassung der Befunde über die Zeit, 99.02, Injektion 5 (Bolus, RI)

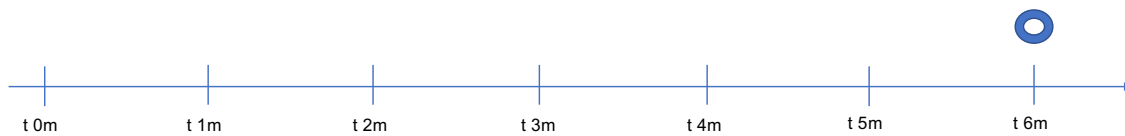


Abb. 64: Zusammenfassung der Befunde über die Zeit, 99.02, Injektion 6 (Stern, RI)

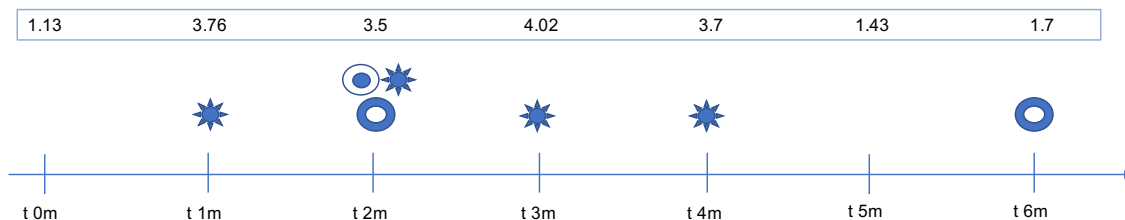


Abb. 65: Zusammenfassung der Befunde über die Zeit, 99.02, Injektion 7 (Bolus, TI)

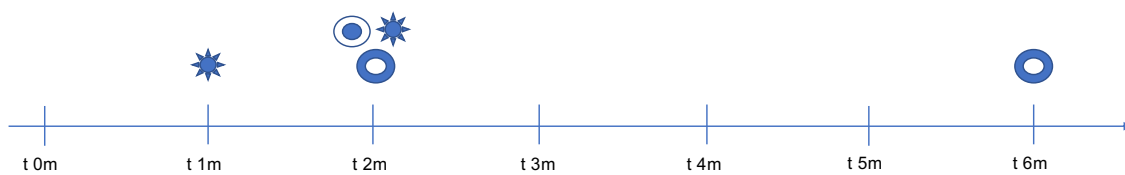


Abb. 66: Zusammenfassung der Befunde über die Zeit, 99.02, Injektion 8 (Stern, TI)

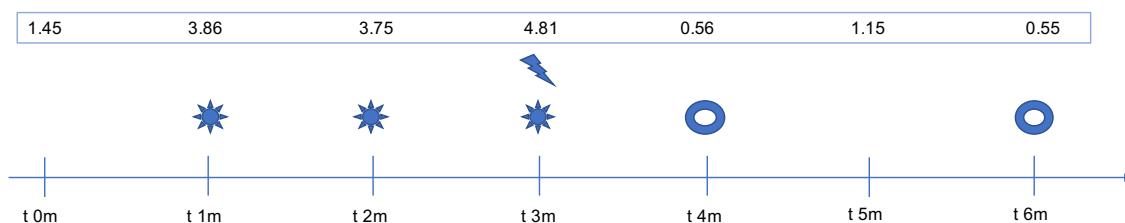


Abb. 67: Zusammenfassung der Befunde über die Zeit, 99.02, Injektion 9 (Bolus, TI)

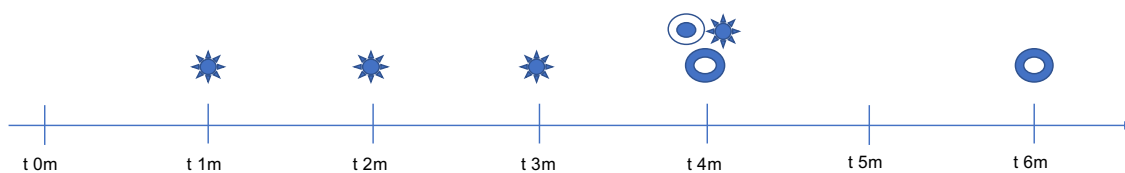


Abb. 68: Zusammenfassung der Befunde über die Zeit, 99.02, Injektion 10 (Stern, TI)

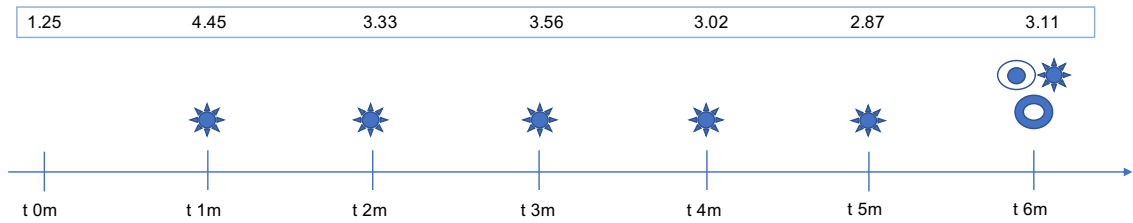


Abb. 69: Zusammenfassung der Befunde über die Zeit, 99.02, Injektion 11 (Bolus, TI)

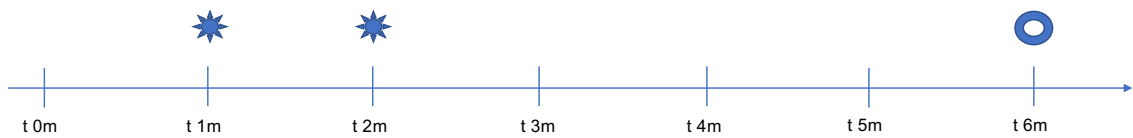


Abb. 70: Zusammenfassung der Befunde über die Zeit, 99.02, Injektion 12 (Stern, TI)

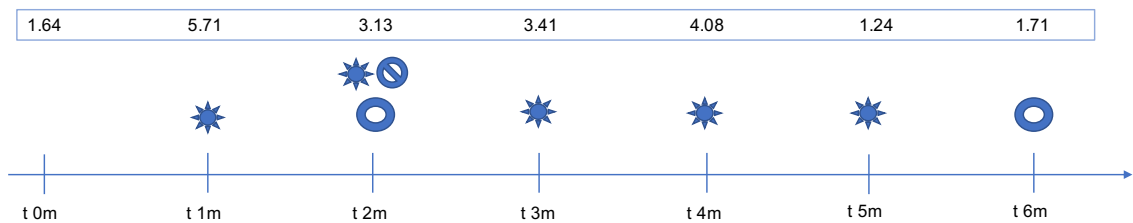


Abb. 71: Zusammenfassung der Befunde über die Zeit, 99.03, Injektion 1 (Bolus, TI)

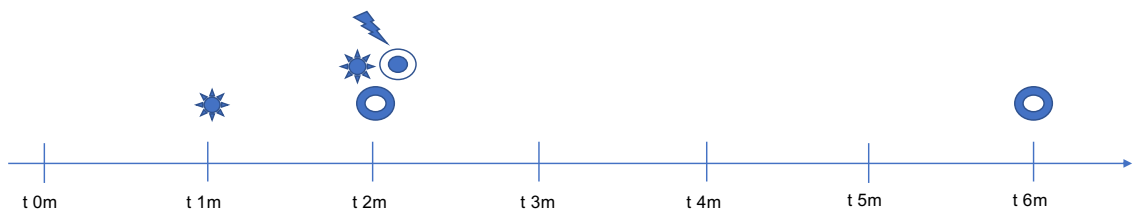


Abb. 72: Zusammenfassung der Befunde über die Zeit, 99.03, Injektion 2 (Stern, TI)

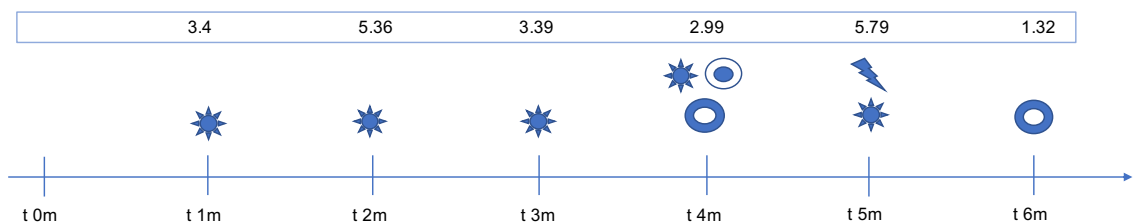


Abb. 73: Zusammenfassung der Befunde über die Zeit, 99.03, Injektion 3 (Bolus, TI)

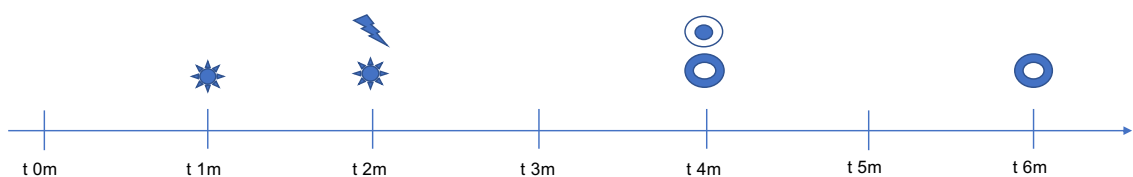


Abb. 74: Zusammenfassung der Befunde über die Zeit, 99.03, Injektion 4 (Stern, TI)

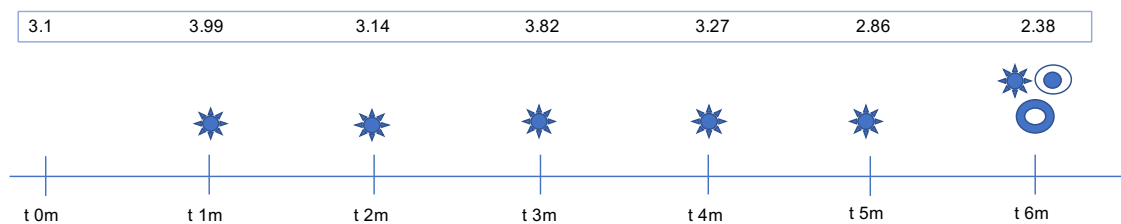


Abb. 75: Zusammenfassung der Befunde über die Zeit, 99.03, Injektion 5 (Bolus, TI)

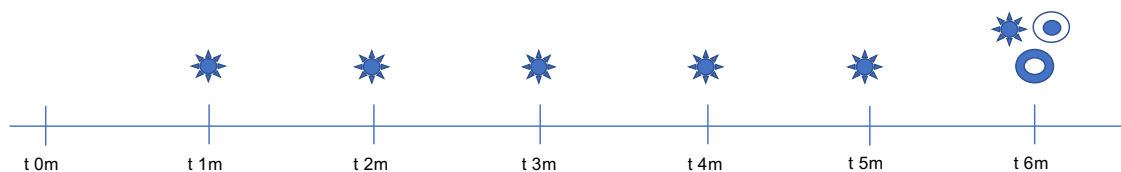


Abb. 76: Zusammenfassung der Befunde über die Zeit, 99.03, Injektion 6 (Stern, TI)

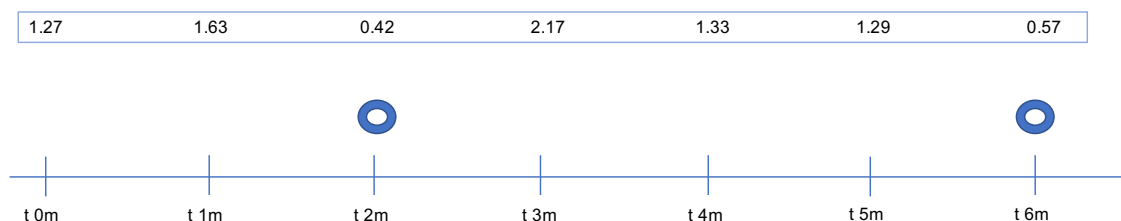


Abb. 77: Zusammenfassung der Befunde über die Zeit, 99.03, Injektion 7 (Bolus, RI)

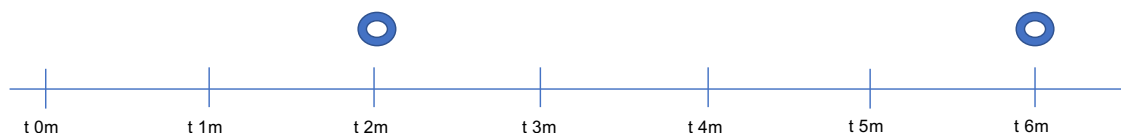


Abb. 78: Zusammenfassung der Befunde über die Zeit, 99.03, Injektion 8 (Stern, RI)

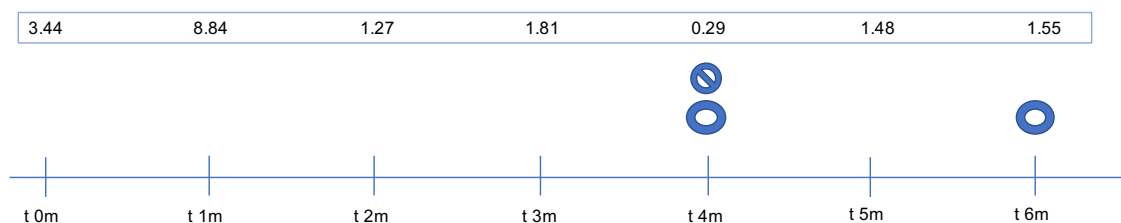


Abb. 79: Zusammenfassung der Befunde über die Zeit, 99.03, Injektion 9 (Bolus, RI)

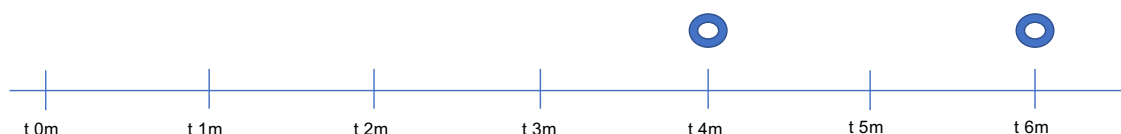


Abb. 80: Zusammenfassung der Befunde über die Zeit, 99.03, Injektion 10 (Stern, RI)

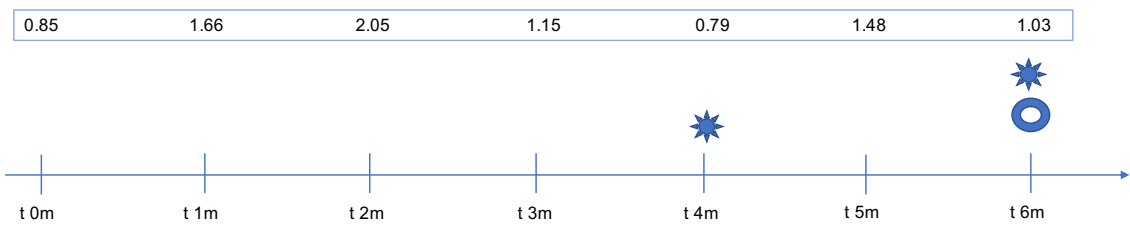


Abb. 81: Zusammenfassung der Befunde über die Zeit, 99.03, Injektion 11 (Bolus, RI)

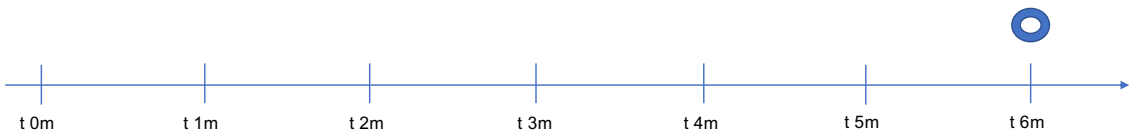


Abb. 82: Zusammenfassung der Befunde über die Zeit, 99.03, Injektion 12 (Stern, RI)

Danksagung

Ich möchte mich an dieser Stelle ganz herzlich bei allen bedanken, die mich auf unterschiedlichste Weise bei dieser Arbeit unterstützt und auf meinem Weg begleitet haben.

Als erstes möchte ich mich bei **Prof. Dr. Brigitte von Rechenberg** für die Möglichkeit bedanken, meine Doktorarbeit bei der MSRU zu schreiben. Vor allem danke ich ihr für die fachliche & persönliche Unterstützung und ihr immer offenes Ohr.

Mein ganz besonderer Dank gilt auch **Dr. Katja Nuss** für die Betreuung und Hilfe, auf die ich mich zu jeder Zeit und in jeder Situation verlassen konnte.

Ich danke ebenso **Prof. Dr. Hans Geyer** für die Übernahme des Korreferats und die unkomplizierte und interessante Zusammenarbeit.

Prof. Dr. Michael Hottiger danke ich für die Unterstützung der MSRU. Die Sommerfeste & Weihnachtsfeiern werden mir in Erinnerung bleiben.

Mein besonderer Dank gilt auch:

Karina Klein und **Peter Kronen** besonders für die lustigen Spieleabende & meinen neuen Spitznamen und **Karina Klein** für deine Ruhe und Geduld bei der gemeinsamen Arbeit mit den Pferden.

Salim Darwiche vor allem für deine Hilfe bei kleinen und grossen Formatierungsfragen. **Anna Geks**, **Dagmar Verdino**, **Milena Tegelkamp** und **Rieke Gehrke** für die wundervolle Zeit und die fantastischen Kochabende. Ganz besonders auch **Anna** für deine grossartige Unterstützung bei den Schweinen, **Dagi** für das gemeinsame Hinterherlaufen beim Schweinefangen um 5 Uhr morgens vor dem 1. Kaffee, **Milena** für die gemeinsame Zeit beim Sport & deine einzigartige Fähigkeit, für gute Laune zu sorgen und **Rieke** für deine unglaubliche Gelassenheit & positive Art.

Isabel Heckel für den tollen Sommer, die beste Tee-Gesellschaft und deine ansteckende Lebensfreude.

Andrew Hicks vor allem für deine Hilfe bei der Betreuung der Schweine.

Agnieszka Karol und **Aymone Lenisa** für eure grosse Unterstützung bei der Histologie. **Myrna Gunning** für die Spaziergänge, die langen Gespräche und die kleinen Auszeiten vom Alltag.

Rosita Walther für die gemeinsame und entspannte Arbeit bei den Pferden.

Sabine Koch für deine offene & herzliche Art und deinen Humor.

Flurina Clement Frey besonders für das schöne Erfolgserlebnis an der Nähmaschine.

Dem **Team der Schweineklinik** am Tierspital Zürich für die tolle, hilfsbereite und unkomplizierte Zusammenarbeit.

Felix Theiss, durch den ich überhaupt erst auf die Idee gekommen bin, eine Doktorarbeit in der Schweiz zu schreiben.

Meiner Familie für die grossartige Unterstützung, vor allem auch während der Zeit der Doktorarbeit.

Meinen Freundinnen für den Rückhalt und die Unterstützung in jeder Situation.

Curriculum Vitae

Vorname Name	Christina Wiezorek
Geburtsdatum	04.04.1993
Geburtsort	Stolberg, Deutschland
Nationalität	Deutsch
08/1999 - 07/2003	Städtische Gemeinschaftsgrundschule Walheim, Aachen, Deutschland
09/2003 - 06/2012	Einhard Gymnasium, Aachen, Deutschland
29/06/2012	Allgemeine Hochschulreife (Abitur), Einhard Gymnasium, Aachen, Deutschland
10/2012 - 02/2018	Studium der Veterinärmedizin, Justus-Liebig-Universität Giessen, Giessen, Deutschland
20/02/2018	Abschlussprüfung vet. med., Justus-Liebig-Universität Giessen, Giessen, Deutschland
05/2018 - 07/2020	Anfertigung der Dissertation unter Leitung von Prof. Dr. med. vet. Brigitte von Rechenberg am Institut für Molekulare Mechanismen bei Krankheiten, Musculoskeletal Research Unit (MSRU) der Vetsuisse-Fakultät Universität Zürich Direktor Prof. Dr. med. vet. et phil. Michael Hottiger